

Variabilités verticale et temporelle des acides gras d'un phytoplancton lacustre au cours d'un cycle nycthéral

Gilles Bourdier & Christian Amblard

Laboratoire de Zoologie, U.A. CNRS 040138, Université de Clermont-Ferrand II, B.P. 45, 63170 Aubière, France

Received 21 November 1985; in revised form 15 May 1986; accepted 20 October 1986

Key words: lake, phytoplankton, lipids, fatty acids, diel variations

Abstract

Vertical and temporal variability in the content and composition of fatty acids in the lake phytoplankton were studied during a diel cycle (48 h). There is temporal variability in total fatty acid (FA) content per biomass unit but it is not strictly diurnal. In contrast, polyunsaturated FA with 20–22 C chains and Σ unsaturated FA/ Σ saturated FA ratio are higher during the day than during the night.

The temporal variability was not as great as the variability is between sampling depths characterized by different phytoplankton assemblages. Phytoplankton composition and physiological state were the principal factors affecting FA composition. Thus, a C16:1w7/C18:1w9 ratio distinguishes between diatoms, with a high level of C16 unsaturated FA, and dinoflagellates with C18 unsaturated FA. This ratio was different at the surface and at 20 m depth, where the phytoplankton had the same taxonomic composition but a different physiological activity.

Introduction

La recherche de marqueurs taxonomiques et de descripteurs de l'état physiologique des organismes est l'une des préoccupations majeures des études menées en milieu aquatique. Dans cette optique, la caractérisation des principales fractions biochimiques (glucides, lipides, protéines) et de leurs constituants (oses, acides gras, amino-acides) a été souvent envisagée. A ce propos, il semble que l'étude des acides gras (AG) soit particulièrement intéressante car ils entrent dans la composition des lipides de réserve et sont également des composants majeurs des lipides polaires constitutifs des systèmes membranaires. Du fait de leur structure chimique, mais aussi de leur importance métabolique à l'échelle cellulaire, les AG pourraient donc être des marqueurs taxonomiques et

aussi des indicateurs de l'activité des cellules. Les travaux réalisés sur des cultures ont mis en évidence l'influence de différents facteurs tels que lumière et température (Opote, 1974a; Orcutt & Patterson, 1974; Materassi *et al.*, 1980) et éléments biogènes (Chisholm & Shifrin, 1980) sur le métabolisme lipidique. Par ailleurs, Fischer & Schwarzenbach (1978) ont décrit l'influence d'un cycle jour-nuit sur la composition en acides gras de diatomées en culture.

En milieu naturel, les travaux relatifs aux variations nycthérales de la composition en AG du phytoplancton sont extrêmement rares voire inexistantes. L'objet de la présente étude est donc, d'une part, de mettre en évidence l'influence éventuelle d'un rythme nycthéral sur la composition lipidique du phytoplancton, et d'autre part, de comparer cette variabilité temporelle à la variabilité spatiale

liée à la présence de peuplements bien individualisés aux différentes profondeurs échantillonnées.

Cette étude a porté sur le lac Pavin (France), lac méromictique et dimictique à caractère oligo-mésotrophe et dont les caractéristiques morphométriques ont été mentionnées dans des travaux précédents (Amblard, 1979). Les eaux du mixolimnion (limite mixo-monimolimnion: 55 m) peuvent être considérées comme très pauvres en bactéries (Champiat, 1976) et ce lac semble être un milieu privilégié pour une telle recherche dans la mesure où la stabilité de la masse d'eau permet, en théorie, de s'adresser aux mêmes peuplements phytoplanctoniques pendant toute la durée du cycle.

Methodologie

Les prélèvements ont été effectués au point central du lac qui présente une profondeur de 92 m (point de compensation photique $Z_{1\%} = 21$ m; thermocline située entre 6 et 10 m de profondeur), toutes les 3 heures, pendant 48 heures (23–24 juin 1982), aux profondeurs suivantes: près de la surface, – 5, – 10, – 20, et – 50 m. Au cours de cette expérience, la couverture nuageuse a été très faible, et l'ensoleillement a été sensiblement identique au cours des deux journées. En effet, les valeurs d'albédo enregistrées pour ces deux jours sont respectivement 515 et 499 $\text{cal} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{j}^{-1}$.

L'eau est prélevée à l'aide d'une bouteille Van Dorn. Une préfiltration sur tamis de 160 μm de vide de maille permet d'éliminer l'essentiel des espèces zooplanctoniques et des détritiques. L'observation des échantillons au microscope inversé a permis de considérer comme négligeable la contamination zooplanctonique.

Dénombrements cellulaires

Les numérations cellulaires sont effectuées au microscope inversé Wild M 40 selon la méthode d'Uthermöhl (1958) modifiée par Legendre & Watt (1971–1972). L'évaluation de la biomasse ('Bio-asse-centage') à partir du volume cellulaire moyen de chaque espèce sur une centaine d'individus est effectuée selon la méthode de Lohmann (1908).

Les espèces de Diatomées (*Melosira italica* var. *subarctica*, *Synedra rumpens*, *Cyclotella* spp...) dont nous avons tenu compte lors des estimations de biomasse, ayant un volume plasmique (calculé à partir de la formule de Smayda, 1965) sensiblement identique au volume cellulaire total, nous avons simplement considéré ce dernier.

Dosage des acides gras

Les échantillons de phytoplancton destinés au dosage des AG sont récoltés sur filtres en fibre de verre Whatman GF/C de porosité comprise entre 0.45 et 1 μm , préalablement dégraissés par traitement aux solvants et combustion. Les acides gras totaux (AGT) sont obtenus par saponification directe dans une solution de KOH à 5% dans le méthanol, pendant 3 heures à 60 °C (Volkman *et al.*, 1980). Après élimination du matériel insaponifiable et acidification à pH 2, les AG de saponification sont extraits par l'hexane, lavés et méthylés par une solution de HCl à 3% dans le méthanol durant une demi-heure à 60 °C. Les esters méthyliques extraits par l'hexane sont alors séparés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire de verre (longueur: 40 m, diamètre intérieur: 0.35 mm), la phase stationnaire utilisée étant le F.F.A.P.. Le système d'analyse est constitué par un chromatographe Packard type 427 muni d'un détecteur à ionisation de flamme, connecté à un intégrateur-calculateur électronique LTT ICAP 5 et un enregistreur Sefram 1mV. Les conditions opératoires sont les suivantes: température du four: 195 °C – température de l'injecteur et du détecteur: 235 °C – gaz vecteur: hélium purifié type "U", pression 0.7 bar. Chacun des AG est identifié en calculant sa longueur d'équivalence de chaîne après comparaison à un mélange standard d'AG traité dans les mêmes conditions.

L'adjonction d'un étalon interne d'AG (C17: 0) à l'échantillon permet de connaître le poids d'AGT contenu dans l'échantillon. Les compositions en AG sont établies en pourcentages relatifs des AGT. La nomenclature adoptée est celle dite en ' ω ' où la position de la première double liaison est comptée à partir du groupement méthyle terminal.

La précision des mesures a été calculée à partir d'échantillons prélevés en milieu naturel et traités

dans les mêmes conditions (Bourdier, 1985). Le coefficient de variation moyen est voisin des 5% pour les AG majeurs constituant plus de 10% des AGT. Ce coefficient est de l'ordre de 15% à 30% pour ce qui concerne les AG les moins bien représentés.

Resultats et discussion

Etude qualitative des peuplements phytoplanctoniques

En raison de la stratification thermique bien établie

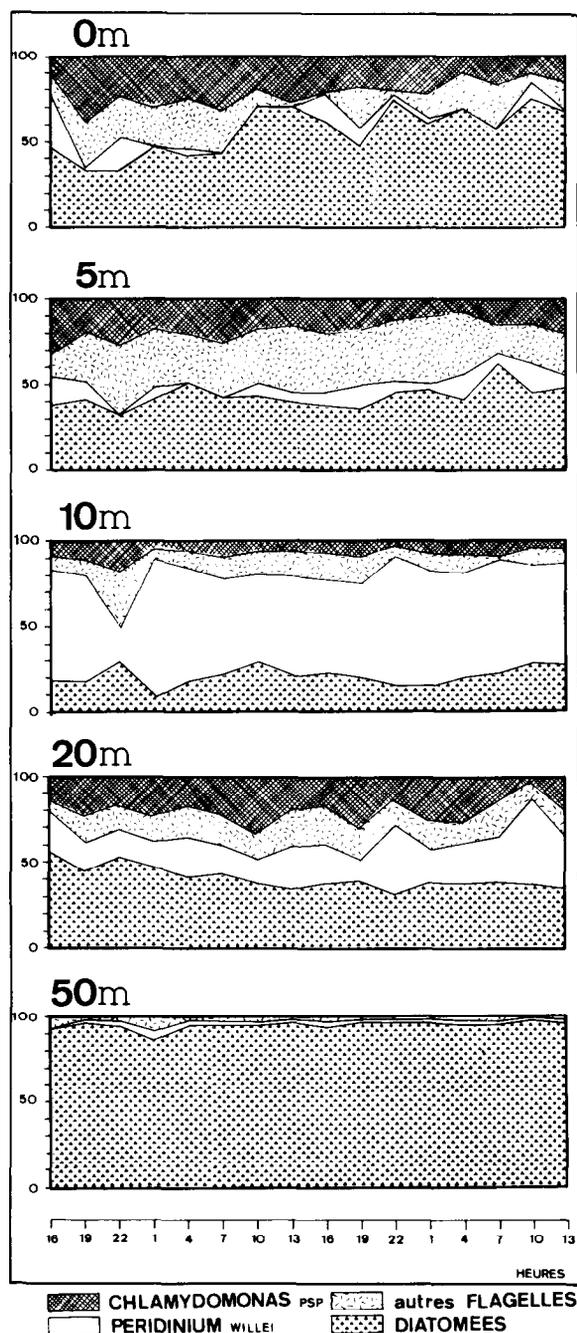


Fig. 1. Composition taxonomique du phytoplancton (proportions relatives de la biomasse totale).

à cette époque de l'année, il existe une hétérogénéité verticale très importante des espèces (Fig. 1).

- En surface (0 et 5 m) le phytoplancton est essentiellement représenté par des algues de la classe des Chlorophycées (*Chlamydomonas* sp., *Ankistrodesmus setigerum*, *Monoraphidium contortum*, *Sphaerocystis Schroeteri* et de différentes petites espèces flagellées non identifiées) et de la classe des Diatomophycées (*Synedra rumpens*, *Cyclotella* sp.).
- La profondeur 10 m est caractérisée par la présence d'une espèce de grande taille de la classe des Dinoflagellés: *Peridinium willei*.
- A la profondeur 20 m, le peuplement est plus diversifié en raison de la présence des Chlorophycées notées en surface auxquelles viennent s'ajouter *Dinobryon cylindricum* et une Diatomophycée, *Melosira italica* var. *subarctica*, en voie de sédimentation.
- C'est d'ailleurs cette dernière espèce, dont la floraison printanière dans l'épi – et le métalimnion est terminée, qui est largement dominante à la profondeur 50 m puisqu'elle représente plus de 80% des cellules dénombrées.

Aspect général des spectres d'AG

La majorité des AG rencontrés au cours de cette étude présentent un nombre pair d'atomes de carbone, nombre compris entre 14 et 22. Les AG saturés les mieux représentés sont, par ordre d'importance, les acides palmitique (C16: 0), myristique (C14: 0) et stéarique (C18: 0); les AG saturés C20: 0 et C22: 0

excèdent rarement 3% des AGT (Tableau 1). Les monoènes rencontrés sont essentiellement les acides palmitoléique (C16: 1 ω ₇) et oléique (C18: 1 ω ₉). Les AG polyinsaturés appartiennent, par ordre d'importance, aux séries en C18, C20, et C22 et sont, pour leur majorité, de la famille des linoléates (ω ₃). Les profils d'AG obtenus pour le phytoplancton lacustre sont donc similaires à ceux décrits pour le phytoplancton marin (Mayzaud, 1980; Goutx & Saliot, 1980). Il faut par ailleurs signaler la très faible part prise par les AG saturés à chaîne impaire, droite ou ramifiée, tels que C15: 0, Iso. 15, Ant. 15.; l'ensemble de ces composés n'excédant pas 1.9% des AGT. Ces AG sont considérés généralement comme des marqueurs de l'activité bactérienne (Joint & Morris, 1982; Saliot *et al.*, 1982).

Variabilité verticale

Variabilité verticale de la teneur en AGT du phytoplancton

Au cours de cette étude, les AGT représentent entre 0.8 et 7.3% de la biomasse phytoplanctonique. Pour certains échantillons, ces valeurs semblent légèrement supérieures à celles obtenues à partir d'algues en culture. En effet, Ackman *et al.* (1964) estiment les AGT à 1.8% du poids frais chez *Skeletonema costatum* tandis que Harrington (1970) signale des teneurs comprises entre 1.5 et 3.4% du poids sec chez différents Dinoflagellés marins. Remarquons cependant que ces résultats concernent des espèces marines, en culture axénique et phase exponentielle de croissance.

Tableau 1. Principaux acides gras phytoplanctoniques (acides gras en pourcentages relatifs des acides gras totaux et valeur moyenne (\bar{m}) et écart-type (σ) par profondeur.)

| P _m | 0 | | 5 | | 10 | | 20 | | 50 | |
|-----------------------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | \bar{m} | σ |
| C16:0 | 17.1 | 7.7 | 19.1 | 8.5 | 19.5 | 2.8 | 17.4 | 6.6 | 16.6 | 7.5 |
| C16:1 ω ₇ | 13.0 | 8.3 | 11.3 | 5.9 | 10.8 | 4.0 | 19.0 | 5.3 | 17.0 | 6.7 |
| C18:1 ω ₉ | 11.7 | 3.1 | 13.2 | 5.9 | 22.7 | 7.1 | 12.5 | 5.0 | 11.8 | 4.2 |
| Σ C20 poly I | 12.7 | 7.6 | 16.0 | 13.7 | 12.1 | 7.6 | 11.8 | 10.4 | 11.6 | 7.2 |
| Σ C22 poly I | 9.2 | 9.3 | 7.6 | 7.9 | 4.8 | 2.4 | 5.1 | 3.0 | 7.3 | 7.2 |

Tableau 2. Rapport acides gras totaux/biomasse phytoplanctonique (acides gras totaux (AGT) en pourcentages de la biomasse totale et valeur moyenne (\bar{m}) par profondeur, écart-type (σ), et coefficient de variation moyen (CV = $100 \sigma/\bar{m}$).

| P _m | 0 m (n = 16) | 5 m (n = 16) | 10 m (n = 16) | 20 m (n = 16) | 50 m (n = 16) | 0–20 m (n = 16) |
|----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| \bar{m} | 3.9 | 4.2 | 5.4 | 3.9 | 1.3 | 4.3 |
| σ | 2.3 | 2.3 | 2.2 | 1.9 | 0.3 | 2.3 |
| CV % | 59.0 | 54.8 | 40.7 | 48.7 | 23.1 | 53.5 |

Nous constatons, par ailleurs, une variabilité verticale de la teneur en AGT du phytoplancton analysé. Cette différence globale entre les profondeurs correspond, en fait à deux observations essentielles. D'une part, la teneur en AGT du phytoplancton est, en moyenne, plus élevée au niveaux 0, –5, –10, et –20 m qu'à la profondeur 50 m (Tableau 2). A ce sujet, Poltz (1972) in Wetzel (1983) avait noté une diminution de moitié, de la teneur en AGT associée à une baisse du contenu en lipides totaux et en triglycérides lorsque le plancton quitte la zone trophogène. Plus précisément, les cellules de la population de *Melosira italica* var. *subarctica*, qui sédimentent sont en partie, vivantes (Romagoux, 1976; Amblard, 1979) et utilisent hors de la zone euphotique leurs composés de réserve et, en particulier, les lipides. A ce propos, Opute (1974b) a montré qu'à faible intensité lumineuse la teneur en triglycérides, principaux lipides de réserve, est réduite chez les Diatomées en culture. De plus, selon Poltz (1972) in Wetzel (1983), l'essentiel de la dégradation des AGT se produit dans l'épilimnion. Ces faits tendent donc à abaisser notablement la teneur en AGT du phytoplancton prélevé en dessous de la zone trophogène. De plus, une cause supplémentaire, liée à la méthode de dénombrement cellulaire au microscope inversé, peut être avancée pour expliquer une plus forte teneur en AGT du phytoplancton récolté dans la zone 0–20 m par rapport à celui prélevé à –50 m. Il est vraisemblable que l'estimation de biomasse à partir des dénombrements cellulaires sous-évalue la biomasse en ne prenant pas en compte la totalité du nanoplancton (Amblard, 1983), cette sous-estimation est vraisemblablement plus importante dans la zone 0–20 m puisque les Flagellés de petite taille y sont, proportionnellement, plus abondants.

D'autre part, à l'intérieur même de la zone 0–20 m, il apparaît que les valeurs des teneurs en AGT sont souvent plus fortes au niveau –10 m qu'aux autres profondeurs. A la profondeur 10 m, *Peridinium willei* constitue généralement plus de 60% de la biomasse phytoplanctonique totale, tandis que le phytoplancton de surface est plus diversifié et composé d'algues de la classe des Chlorophycées et des Bacillariophycées. Aussi, notre observation est en accord avec les résultats de Parsons *et al.* (1961) qui rapportent de fortes teneurs en lipides chez les Dinophycées par rapport aux Chlorophycées, Chrysophycées et Bacillariophycées. Dans un travail plus récent, Hitchcock (1982), comparant différentes espèces d'Algues marines en culture, montre que les Périidiniens possèdent jusqu'à 3 fois plus de composés lipidiques par unité de volume plasmique que les Diatomées.

Variabilité verticale de la composition en AG

Globalement, il existe une certaine homogénéité dans la répartition des AG, dans la mesure où les AG dits 'majeurs' (constituants au moins 10% des AGT) sont généralement les mêmes, quelles que soient la profondeur considérée et l'heure de prélèvement. Les spectres d'AG phytoplanctoniques sont, en effet construits sur le même 'motif' biochimique. Cependant, il apparaît qu'au cours des 48 heures de prélèvements, les proportions des deux principaux monoènes (C16: 1 ω_7 et C18: 1 ω_9) dépendent essentiellement de la profondeur.

Ainsi, si nous examinons les profils des acides palmitoléique (C16: 1 ω_7) et oléique (C18: 1 ω_9) aux différentes profondeurs d'échantillonnage (Fig. 2), il s'avère qu'en dépit des variations propres à chacun de ces deux AG, la dominance d'un composé par rapport à l'autre est constante dans le temps pour une profondeur donnée; elle est cependant différente d'une profondeur à l'autre. Ainsi à 0 m et –5 m, le C16: 1 ω_7 et le C18: 1 ω_9 sont régulièrement en proportions sensiblement équivalentes. A –10 m, le C18: 1 ω_9 est largement dominant par rapport au C16: 1 ω_7 . Aux niveaux –20 m et –50 m, la tendance est généralement inverse, avec des proportions plus élevées de C16: 1 ω_7 par rapport à celles de C18: 1 ω_9 . Si l'on admet que l'interaction profondeur-

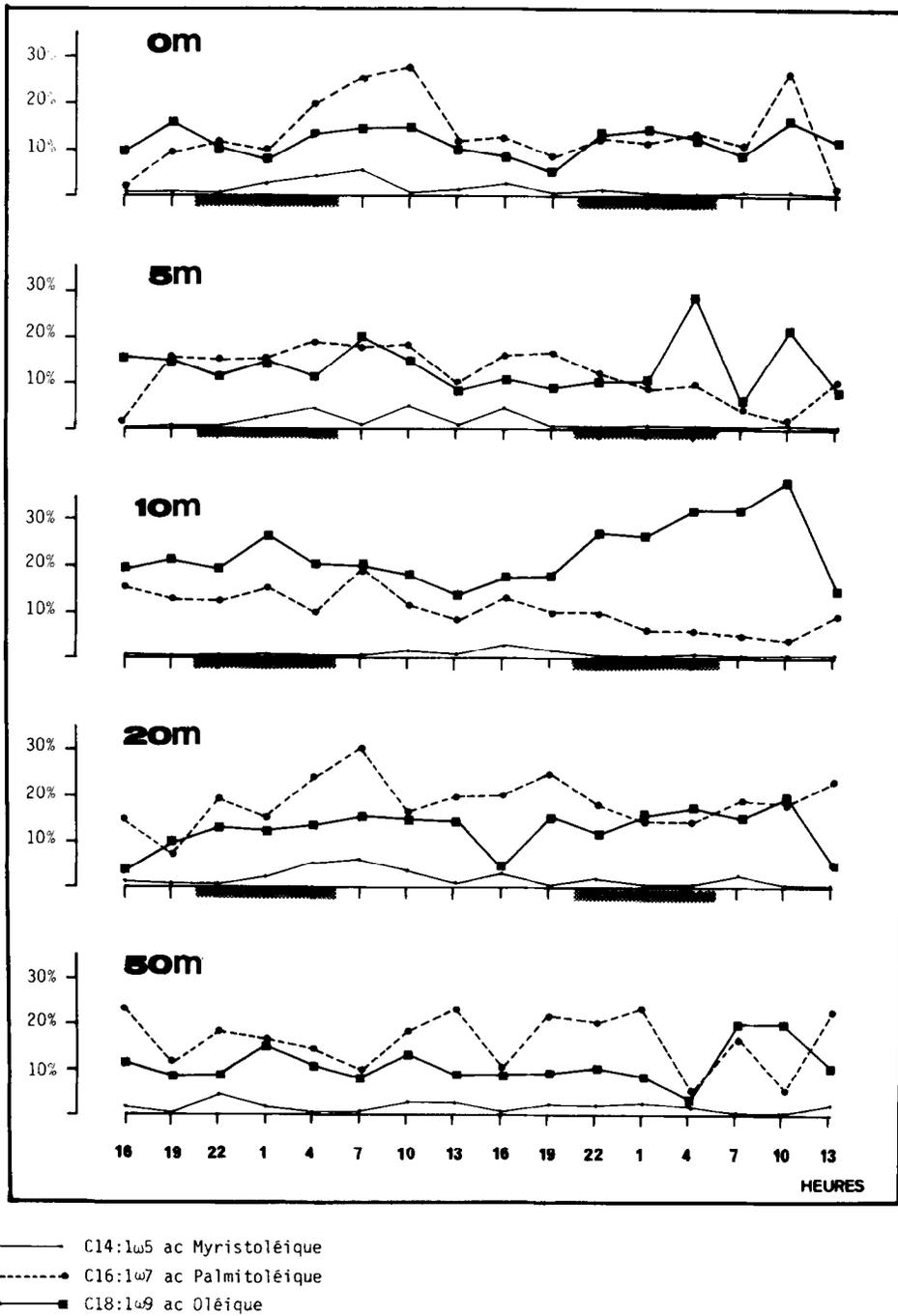


Fig. 2. Evolution nyctémérale de la proportion relative des acides gras monoinsaturés (C14: 1 ω ₅: acide myristoléique; C16: 1 ω ₇: acide palmitoléique; C18: 1 ω ₉: acide oléique.)

Tableau 3. Analyse de variance à 2 facteurs à partir des valeurs de C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 .

| | Somme des carrés | Carré moyen | d.d.l. | F |
|-------------|------------------|-------------|--------|-------|
| Profondeurs | 13.95 | 3.49 | 4 | 10.84 |
| Heures | 6.36 | 0.42 | 15 | 1.32 |
| Erreur | 19.30 | 0.32 | 60 | |
| Total | 39.61 | | 79 | |

temps est négligeable, l'analyse de variance à 2 facteurs, réalisée à partir des valeurs du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 montre, en effet, que la valeur de ce rapport est nettement différente selon les profondeurs et relativement indépendante du facteur temps pour une même profondeur (Tableau 3). Le calcul des valeurs moyennes, par profondeur, du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 , montre, en effet que 3 groupes différents se dégagent (Tableau 4):

- 0 m et -5 m où C16:1 ω_7 /C18:1 $\omega_9 \approx 1$
- 10 m où C16:1 ω_7 /C18:1 $\omega_9 \approx 0.5$
- 20 m et -50 m où C16:1 ω_7 /C18:1 $\omega_9 \approx 1,6$

Tout d'abord, nous constatons donc que les valeurs moyennes du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 n'apparaissent pas différentes à 0 m et à -5 m (Tableau 4) (t student = 0.58; seuil de significative 5% = 2.14). En effet, à ces deux niveaux les conditions abiotiques sont sensiblement identiques, les peuplements phytoplanktoniques présentent une composition taxonomique analogue (Fig. 1) et sont caractérisés par des valeurs de production primaire semblables (Bourdier, 1985).

Le phytoplancton récolté à -10 m, caractérisé par la présence de *Peridinium willei*, se distingue par une faible valeur moyenne du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 ($\bar{m}=0.5$). La prépondérance de l'acide C18:1 ω_9 chez ce peuplement à Dinophycées dominantes

Tableau 4. Rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 - valeur moyenne par profondeur (\bar{m}) et écart-type (σ).

| P _m | \bar{m} | σ |
|----------------|-----------|----------|
| 0 | 1.10 | 0.56 |
| 5 | 0.99 | 0.52 |
| 10 | 0.54 | 0.25 |
| 20 | 1.63 | 0.76 |
| 50 | 1.64 | 0.68 |

a déjà été observée lors du cycle annuel (Bourdier & Amblard, 1986). De plus ce résultat est en accord avec les travaux de Mayzaud (1980) associant de fortes teneurs en acide oléique au développement estival des Dinophycées en mer. De surcoût, les analyses de souches en culture montrent, de façon claire, que l'acide oléique est en proportion supérieure à l'acide palmitoléique chez les Dinoflagellés marins (Harrington *et al.*, 1970).

A l'opposé, le phytoplancton récolté à la profondeur 50 m est constitué presque exclusivement par *Melosira italica* var. *subarctica*; le rapport entre les deux monoènes présente des valeurs élevées, proches de 1.6.

Conformément aux travaux de Ackman et Tocher (1968) et Chuecas & Riley (1969), nous pouvons donc opposer les Dinophycées riches en C18 insaturés, aux Bacillariophycées chez lesquelles les C16 insaturés sont relativement plus abondants. Au cours de notre étude, il apparaît que cette différence est plus particulièrement marquée au niveau des AG monoinsaturés.

Par ailleurs, nous savons que, conformément aux hypothèses de Jeffries (1970) et Mayzaud (1980), et tel que nous l'avons montré au cours d'une étude annuelle, l'acide palmitoléique (C16:1 ω_7) est synthétisé en forte proportion lors de la floraison, dans la zone trophogène, de *Melosira italica* var. *subarctica*, les échantillons présentant alors des valeurs du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 supérieures à 3 (Bourdier & Amblard, 1986). Les résultats de la présente étude permettent donc de préciser que, malgré une diminution de ce rapport, la prépondérance de l'acide palmitoléique (C16:1 ω_7) sur l'acide oléique (C18:1 ω_9) est maintenue après la sédimentation de *Melosira italica* var. *subarctica*, le rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 étant encore effectivement supérieur à 1 à -50 m.

Enfin la mise en évidence de migrations verticales de cellules flagellées en particulier de *Chlamydomonas* sp. et leurs conséquences sur la composition en acides gras des peuplements confirment les spécificités taxonomiques de certaines classes d'algues. En effet, au cours de cette étude, Amblard (com. pers.), a mis en évidence des phénomènes migratoires de cette Algue dans la zone 0-5 m. Ainsi cette espèce flagellée, très mobile, réalise une migration ascen-

dante pendant la nuit tandis qu'elle tend à s'éloigner de la surface pendant la journée, même si ce phénomène migratoire est moins marqué durant la deuxième partie du cycle. Du fait de ces mouvements, la composition taxonomique du phytoplancton est sensiblement modifiée aux profondeurs 0 et 5 m durant les 48 heures d'expérience. Ainsi, le phytoplancton récolté à 0 m pendant le jour se trouve appauvri en chlorophytes et enrichi en Diatomées par rapport au phytoplancton prélevé la nuit (Fig. 1 et 3). A la profondeur 5 m, le phénomène observé est naturellement inverse.

L'examen comparé des profils de variation du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 aux profondeurs 0 et 5 m (Fig. 3) paraît correspondre effectivement à des changements de la composition taxonomique du phytoplancton à ces deux profondeurs. Ces derniers se traduisent par une diminution de l'importance des chlorophytes au sein de la biomasse pendant la journée, et par une augmentation corrélative des Diatomées. Ainsi par exemple, au cours des 24 premières heures d'observation, la biomasse de *Chlamydomonas* sp. décroît régulièrement à 0 m, alors que le rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 augmente pendant cette

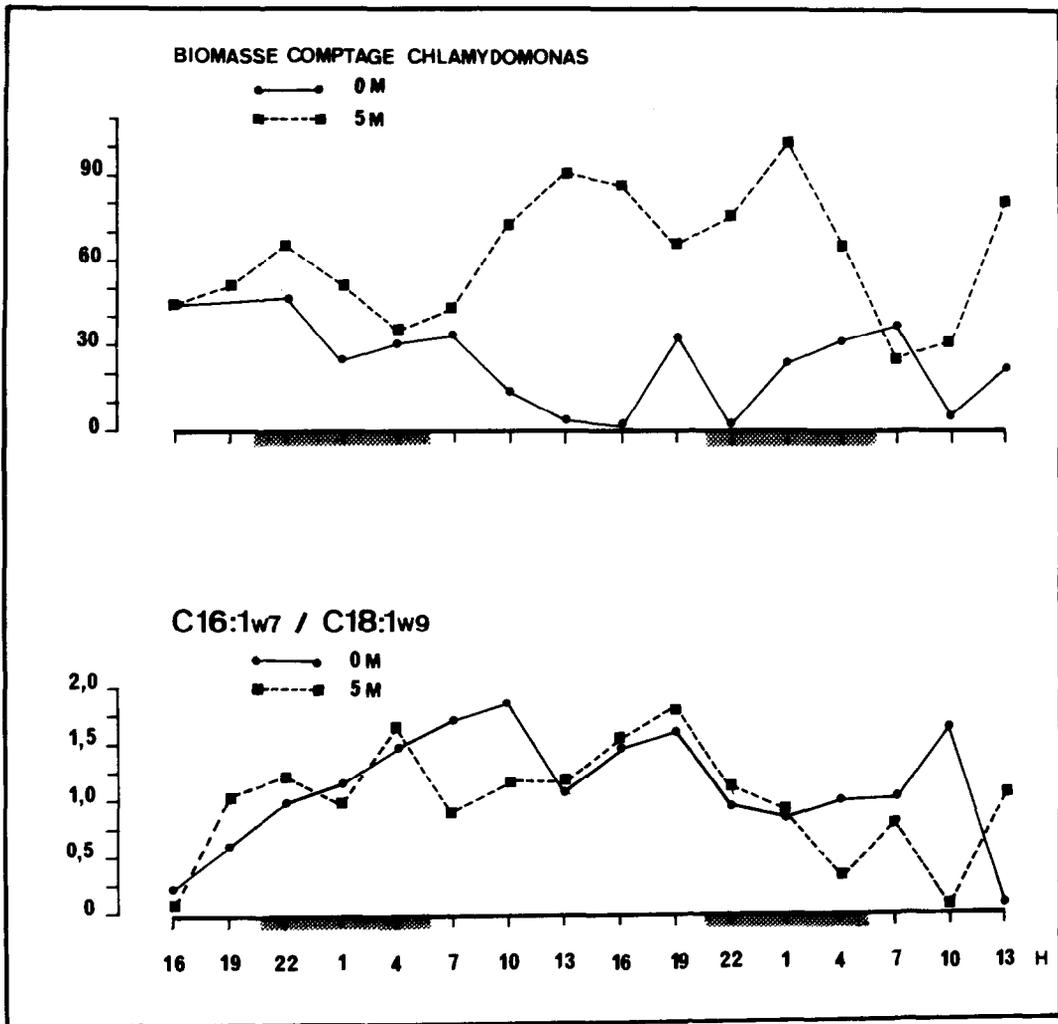


Fig. 3. Evolution comparée, aux niveaux 0 et -5 m, de la biomasse de *Chlamydomonas* sp. (pg. 1⁻¹) établie à partir des dénombrements cellulaires (biomasse-comptage) et du rapport C16:1 ω_7 /C18:1 ω_9 .

même période. Inversement, au cours de la deuxième nuit, à cette même profondeur, la biomasse de *Chlamydomonas* s'élève, alors que les valeurs du rapport des deux AG sont plus faibles qu'entre 7 h et 19 h le jour précédent. Cette observation est en accord avec les résultats précédemment exprimés, montrant une valeur sensiblement plus élevée du rapport C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9 pour le phytoplancton récolté à - 50 m et dominé exclusivement par la Diatomée *Melosira italica* var. *subarctica*.

Cependant, on peut constater que la composition taxonomique n'est pas le seul facteur à intervenir dans la composition en acides gras du phytoplancton.

En effet, les valeurs moyennes du rapport C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9 sont différentes à 0 et - 5 m (voisine de 1) d'une part, et à - 20 m (proche de 1.6) d'autre part (Tableau 4). Or, à ces trois profondeurs d'échantillonnage, la composition spécifique du phytoplancton est très proche: les Algues appartenant, pour l'essentiel, aux mêmes espèces de Bacillariophycées et d'Euchlorophycées sont rencontrées dans des proportions voisines. La seule différence réside dans le fait que la Dinophycée *Peridinium willei*, peu abondante aux niveaux proches de la surface, est présente à - 20 m (Fig. 1). la répartition des deux monoènes ne peut donc être expliquée ici par le seul biais de compositions taxonomiques très nettement différentes. En outre, il faut remarquer que les plus faibles teneurs d'acide palmitoléique en surface ne peuvent être expliquées par une impossibilité, au niveau des algues, à désaturer l'acide palmitique (C16: 0), puisque nous n'enregistrons pas d'accumulation de cet AG à 0 et - 5 m (Tableau 1).

Il semble donc logique d'envisager que l'activité physiologique des cellules présentes dans la zone 0-5 m et à une profondeur proche du niveau de compensation photique n'est pas la même. Cette hypothèse est corroborée par le fait que les deux types de peuplements sont caractérisés par des valeurs de production primaire différentes, l'assimilation photosynthétique étant très faible à - 20 m (Bourdier, 1985). A ce sujet, Morris (1984) note une augmentation d'acide palmitoléique et une diminution d'acide oléique dans les lipides polaires des algues à la fin d'une poussée phytoplanctonique en écosystème expérimental clos. Cependant, à l'hypo-

thèse d'un changement de métabolisme, faut-il apporter certaines précisions; nous avons, en effet, souligné précédemment que *Melosira italica* var. *subarctica* conserve un rapport acide palmitoléique/acide oléique élevé lors de sa sédimentation (de l'ordre de 1.6) même si la proportion d'acide palmitoléique tend à diminuer après la floraison (Bourdier & Amblard, 1986).

Variabilité temporelle

Variabilité temporelle de la teneur en AGT du phytoplancton (exprimée par le rapport AGT/biomasse phytoplanctonique)

L'examen des valeurs moyennes par profondeur et de leurs écart-types correspondants montre que le rapport AGT/biomasse phytoplanctonique subit des variations temporelles importantes (Tableau 2). En outre, nous constatons que l'amplitude de ces variations temporelles est plus élevée dans la zone 0-20 m qu'au niveau - 50 m. Cependant, le test t de Student n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative entre les valeurs moyennes, par profondeur, du rapport AGT/biomasse phytoplanctonique obtenues à partir des mesures de jour et celles obtenues à partir des mesures de nuit (Tableau 5). Aussi, il semble délicat de considérer que les variations de la teneur en AGT du phytoplancton suivent ici un rythme nyctéméral, au sens strict du terme. Les variations pourraient, peut-être, être mises en relation avec l'activité métabolique des cellules, en considérant que le rythme qui les régit n'est

Tableau 5. Rapport acides gras totaux/biomasse phytoplanctonique - acides gras totaux (AGT) en pourcentages de la biomasse totale et valeur moyenne, par profondeur, obtenue à partir des mesures de jour ($\bar{m}J$) et écart-type (σJ); valeur moyenne, par profondeur obtenue à partir des mesures de nuit ($\bar{m}N$) et écart-type (σN).

| P_m | $\bar{m}J$ | σJ | $\bar{m}N$ | σN | t |
|-------|------------|------------|------------|------------|------|
| 0 | 3.98 | 2.33 | 3.80 | 2.56 | 0.14 |
| 5 | 3.37 | 2.02 | 5.49 | 2.31 | 1.86 |
| 10 | 4.87 | 2.65 | 6.23 | 1.28 | 1.37 |
| 20 | 3.65 | 1.57 | 4.33 | 2.52 | 0.59 |
| 50 | 1.28 | 0.30 | 1.22 | 0.44 | 0.27 |

pas strictement calqué sur le cycle lumineux (Bourdier, 1985).

Variabilité temporelle de la composition en AG du phytoplancton

Au cours de cette étude nycthémerale, des variations cycliques de la composition en AGT du phytoplancton ont pu être mises en évidence. En particulier, il apparaît que le proportion des AG polyinsaturés à longue chaîne carbonnée (20 et 22 atomes de carbone) est, en moyenne et à toutes les profondeurs, plus élevée le jour que la nuit. L'augmentation de l'ensemble de ces polyènes pendant la journée se traduit par une baisse correspondante des principaux AG saturés (C14: 0 et C16: 0). Les variations des AG monoinsaturés (en particulier C16: 1 ω_7 et C18: 1 ω_9) et des AG polyinsaturés à 18C ne semblent pas pouvoir être reliées à un cycle nycthémeral (Bourdier, 1984, 1985).

Du fait que les variations de certains AG, ou série d'AG, sont en phase avec le cycle lumineux, nous pouvons penser que dans la zone euphotique, l'éclairement intervient dans la synthèse des AG insaturés. Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'à toutes les profondeurs, le rapport Σ AG insaturés/ Σ AG saturés est, en moyenne, plus élevé le jour que la nuit (Tableau 6). Le test t de Student nous permet d'affirmer que cette différence est significative au niveau 0 m (Tableau 6), traduisant peut-être ainsi une plus forte influence du facteur lumineux sur le plancton de surface. Pourtant, son rôle n'est sans doute pas exclusif, puisque des variations similaires à celles notées dans la zone euphotique sont relevées à - 50 m. Par ailleurs, la rythmicité du phénomène

Tableau 6. Rapport Σ acides gras insaturés/ Σ acides gras saturés – valeurs moyennes obtenues à partir des mesures effectuées le jour ($\bar{m}J$) et écart-type (σJ); valeurs moyennes obtenues à partir des mesures effectuées la nuit ($\bar{m}N$) et écart-type (σN) correspondant; valeurs de t du test Student.

| P_m | $\bar{m}J$ | σJ | $\bar{m}N$ | σN | t |
|-------|------------|------------|------------|------------|-------|
| 0 | 3.10 | 1.49 | 1.73 | 0.62 | 2.58* |
| 5 | 3.35 | 4.20 | 1.30 | 0.48 | 1.53 |
| 10 | 2.16 | 0.74 | 1.74 | 0.59 | 1.27 |
| 20 | 4.32 | 4.90 | 1.60 | 0.62 | 1.73 |
| 50 | 2.68 | 1.93 | 1.58 | 0.75 | 1.62 |

* Significatif au seuil 5%.

Tableau 7. Analyse de variance à 2 facteurs à partir des valeurs de AGT/biomasse phytoplanctonique.

| | Somme des carrés | Carré moyen | d.d.l. | F |
|-------------|------------------|-------------|--------|-------|
| Profondeurs | 23.34 | 5.84 | 4 | 20.70 |
| Heures | 6.63 | 0.44 | 15 | 1.57 |
| Erreur | 16.92 | 0.28 | 60 | |
| Total | 46.89 | | 79 | |

observé au cours de cette étude est difficilement interprétable dans l'état actuel de nos connaissances du métabolisme lipidique algal. En particulier, il serait utile de préciser les structures lipidiques d'appartenance (membranes, réserves) des AG subissant des variations nycthémerales. (Bourdier, 1986).

Au terme de la présente étude, il apparaît donc que la variabilité temporelle de la teneur en acides gras du phytoplancton enregistrée au cours de ce cycle nycthémeral est nettement inférieure à la variabilité verticale fonction des profondeurs échantillonnées. En admettant que l'interaction profondeur-temps est négligeable, l'analyse de variance à 2 facteurs croisés réalisée sur les valeurs du rapport AGT/Biomasse permet de confirmer très nettement cet 'effet' profondeur (Tableau 7). Les profondeurs échantillonnées étant caractérisées par des peuplements phytoplanctoniques différents, il semble donc bien que composition taxonomique et état physiologique sont les principaux facteurs de la variabilité de la composition en acides gras du phytoplancton.

Summary

Vertical and temporal variabilities in composition and of content the fatty acid (FA) of lake phytoplankton (Pavin lake) were studied during a diel cycle. Samples were taken every 3 h and over 48 h at the following depths: near surface, 5 m, 10 m, 20 m and 50 m. This study has led to the following conclusions:

There is a temporal variability in total fatty acid (TFA) content per biomass unit with a higher amplitude in 0–20 m zone than at 50 m depth. Nevertheless, there are no strict diel variations in TFA content. In return, diel variations in FA composition

were observed. Thus, the average values of polyunsaturated FA with 20–22 C amount were higher at day than during night. Consequently, Σ unsaturated FA/ Σ saturated FA ratio present the same variation.

However, temporal variability in the content and the FA composition was not as great as the vertical variability was between the various sampling depths characterized by different phytoplankton populations. Thus, TFA content per biomass unit was lower in the hypolimnic zone than in photic zone. This decrease should indicate reserve compounds consumption by algae when cells leave trophogenic zone. In addition, Dinoflagellates TFA content was higher than Diatoms one.

The principal mono-unsaturated FA (C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9) were the same at all depths but C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9 ratio varied with depths characterized by different phytoplankton populations. Thus the value of C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9 ratio distinguishes between two weakly diversified populations. Diatoms present high level of C16 unsaturated FA, whereas Dinoflagellates are characterized by C18 unsaturated FA. These taxonomic particularities were confirmed by variations of FA composition in relation to flagellates migratory movements. However, C16: 1 ω_7 /C18: 1 ω_9 ratio value is different near surface and 20 m depth, whereas phytoplankton present same taxonomic composition but different physiological activity. So, taxonomic composition and physiological state seem to be the principal factors in phytoplankton FA composition.

Remerciements

Ce travail a été réalisé à la Station biologique de Besse-en-Chandesse, grâce à une bourse Marie-Louise Verrier.

Références

- Ackman, R. G., P. M. Jangaard, R. J. Hoyle & H. Brockerhoff, 1964. Origine of marine fatty acids. I. Analyses of fatty acids produced by the diatom *Skeletonema costatum*. J. Fish. Res. Bd Can. 21: 747–756.
- Ackman, R. G. & C. S. Tocher, 1968. Marine phytoplankton fatty acids. J. Fish. Res. Bd. Can. 25: 1603–1620.
- Amblard, C., 1979. Applications du dosage des adénosines 5'-phosphate à l'étude d'un phytoplancton lacustre (lac Pavin). Ann. Stat. biol. Besse-en-Chandesse 13: 1–196.
- Amblard, C., 1983. Intérêts du dosage de l'ensemble des nucléotides adényliques pour l'estimation de la biomasse des populations phytoplanctoniques lacustres (Lac Pavin, France). J. Plankton Res. 5: 723–738.
- Barlow, R. G., 1982. Phytoplankton ecology in the Southern Benguela Current (South-Western Africa): a biochemical composition. J. exp. mar. Biol. Ecol. 63: 209–228.
- Bourdier, G., 1984. Evolution nyctémérale de la composition en acides gras d'un phytoplancton lacustre (Lac Pavin, France). Verh. int. Ver. Limnol. 22: 1003–1010.
- Bourdier, G., 1985. Intérêts du dosage des acides gras particuliers pour l'étude d'un phytoplancton lacustre (Lac Pavin, France). Thèse Doct. 3ème Cycle Univ. Clermont-Fd II, 112 pp.
- Bourdier, G., 1986. Composition en acides gras des principales structures lipidiques d'un phytoplancton lacustre. C. R. Acad. Sc., Paris, t. 302, Ser. II, 16: 999–1004.
- Bourdier, G. & C. Amblard, 1987. Evolution de la composition en acides gras d'un phytoplancton lacustre (Lac Pavin, France). Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 72: 81–95.
- Champiat, D., 1976. Applications du dosage des adénosines 5'-phosphate à l'étude de la microflore du lac Pavin. Thèse Doct. 3ème Cycle, Univ. Clermont, 107 pp.
- Chisholm, S. W. & N. S. Shifrin, 1981. Phytoplankton lipids; interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycle. J. Phycol. 17: 374–384.
- Chuecas, L. & J. P. Riley, 1969. Component fatty acids of the total lipid of some marine phytoplankton. J. mar. Biol. Ass. U.K. 49: 97–116.
- Fisher, N. S. & R. P. Schwarzenbach, 1978. Fatty acid dynamics in *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): implications for physiological ecology. J. Phycol. 14: 143–150.
- Goutx, M. & A. Salot. Relationship between dissolved and particulate fatty acids and hydrocarbons, chlorophyll a, and zooplankton biomass in Villefranche Bay, Mediateranean Sea. Mar. Chem. 8: 299–318.
- Harrington, G. W., D. H. Beach, J. E. Dunham & J. E. Holz, 1970. The poly-unsaturated fatty acids of marine dinoflagellates. J. Protozool. 17: 213–219.
- Hitchcock, G. L., 1982. A comparative study of the size dependent organic composition of marine diatoms and dinoflagellates. J. Plankton Res. 4: 363–377.
- Jeffries, H. P., 1970. Seasonal composition of temperate plankton communities: fatty acids. Limnol. Oceanogr. 15: 419–425.
- Joint, I. R. & R. J. Morris, 1982. The role of bacteria in the turnover of organic matter in the sea. Oceanogr. mar. Biol. Ann. Rev. 20: 65–118.
- Legendre, L. & W. D. Watt, 1971–1972. On a rapide technique for plankton enumeration. Ann. Inst. Oceanogr. Paris XLVIII: 173–177.
- Lohman, H., 1908. Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel N.F. 10: 132–170.

- Materassi, R., C. Paoletti, W. Balloni, & G. Florenzano, 1980. Some considerations on the production of lipid substances by microalgae and cyanobacteria. In G. Shelef & C. J. Soeder (eds), *Algae biomass*. Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam: 619–626.
- Mayzaud, P., 1980. Etude du métabolisme nutritionnel du zooplancton: essai de définition biochimique de la matière organique particulaire (seston) et ses voies de transformation au sein d'un écosystème marin néritique. Thèse Doct. Etat, Univ. P. et M. Curie, Paris VI, 250 pp.
- Morris, R. J., 1984. Studies of a spring phytoplankton bloom in an enclosed experimental ecosystem. II. Changes in the component fatty acids and sterols. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 75: 57–70.
- Myklestad, S. & A. Haug, 1972. Production of carbohydrates by the marine diatom *Chaetoceros affinis* var. *willei* (GRAIN) Hustedt. I. Effect of the concentration of nutrients in the culture medium. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 9: 125–136.
- Opute, F. I., 1974a. Lipid and fatty acid composition of diatoms. *J. exp. Bot.* 25: 823–835.
- Opute, F. I., 1974b. Studies on fat accumulation in *Nitzschia palea* Kùlt. *Ann. Bot.* 38: 889–902.
- Orcutt, D. M. & G. W. Patterson, 1974. Effect of light intensity upon *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca fusiformis*). *Lipids* 9: 1000–1003.
- Parsons, T. R., K. Stephens & J. D. M. Strickland, 1961. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd Can.* 18: 1001–1016.
- Romagoux, J. C., 1976. Contribution à l'étude des populations microphytobenthiques du lac Pavin (Puy-de-Dôme). Thèse Doct: 3ème Cycle, Université de Clermont, 90 pp.
- Salot, A., C. Andrie, D. Jullien, A. Lorre, J. C. Marty & P. Scribe, 1982. Dégradation bactérienne de la matière organique dans les eaux de mer: approche par les marqueurs biogéochimiques. *Bactériologie marine*, Editions du CNRS, Paris: 51–56.
- Sakshaug, E., 1977. Limiting and maximum growth rates for diatoms in Narrangansett Bay. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 28: 109–123.
- Smayda, I. J., 1965. A quantitative analysis of the phytoplankton of the Gulf of Panama. II. On the relationship between ¹⁴C assimilation and the diatom standing crop. *Bull. int. Trop. Tuna Comm.* 9: 465–531.
- utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommung der quantitative Phytoplankton-Methodik. *Mitt. int. Ver. Limnol.* 9: 1–38.
- Volkman, J. K., G. Eglinton & E. D. S. Corner, 1980. Sterols and fatty acid of the marine diatom *Biddulphia sinensis*. *Phytochemistry* 19: 1809–1813.
- Wetzel, R. G., 1983. *Limnology*, 2nd edition. Saunders College, New-York, 767 pp.