**CHLOROPHYLLE-a ET PHÉOPHYTINE
ET LEURS RELATIONS
AVEC LES CONCENTRATIONS D'AZOTE
ET DE PHOSPHORE
DANS LE SESTON DU LAC DE MONATE
(ITALIE DU NORD)**

par Marie-France BAUDOUIN et O. RAVERA.

1. — Introduction

Les différentes méthodes utilisées pour l'évaluation de la biomasse d'une population phytoplanctonique comportent toutes des erreurs dont l'importance dépend entre autre de la nature des espèces, du milieu. La détermination chimique a eu un certain succès auprès de nombreux auteurs comme par exemple KOSMINSKI, 1938; MANNING et al., 1941; JUDAY et al., 1943; GESSNER, 1944; BERARDI et TONOLLI, 1943; VOLLENWEIDER, 1956; PARSONS et al., 1960; BECACOS, 1962; ARUGA et MONSI, 1963; NALEWAJO, 1966; SAKAMOTO, 1966; PAVONI, 1969 a et b. La mesure de la concentration en pigments chlorophylliens est l'une des techniques les plus employées. La teneur en chlorophylle ne constitue pas une mesure sûre de la biomasse du phytoplancton étant donné que la teneur en pigment par unité de volume cellulaire dépend de divers facteurs tels que la nature des espèces, l'état physiologique, l'environnement. Toutefois, si on procède à de prudentes évaluations, la détermination de la chlorophylle permet d'obtenir rapidement un indice valable de la biomasse des organismes photosynthétiques (VOLLENWEIDER, 1968). Cette méthode a été appliquée au nannoseston d'un écosystème d'eau douce, ce qui nous a permis d'en étudier la valeur.

Des analyses hebdomadaires de pigments chlorophylliens ont permis d'étudier les variations de concentration de chlorophylle-a

Contribution n° 685 de la division de Biologie, Commission des Communautés Européennes.

Biology Division, C.C.R., Euratom, 21020 Ispra (Varese) Italy.

et de phéopigments en fonction de la saison, de la profondeur et des conditions physiques (température, lumière).

Une telle recherche devait être effectuée dans un écosystème présentant des caractères hydrologiques et morphologiques simples et ayant des apports allochtones et un niveau de pollution minimum. Le lac de Monate, constitué d'un bassin unique, sans courant important, à l'abri des vents et avec un bassin de drainage réduit, constituait un véritable laboratoire naturel. Les principaux caractères morphologiques de ce lac ont été décrits par RAVERA et al., 1971.

2. — Matériel et méthodes

De février 1970 à mars 1971, des prélèvements hebdomadaires d'échantillons d'eau ont été effectués à différentes profondeurs (0, 1, 4, 7, 10, 15, 20, 25 et 30 m) grâce à la bouteille de RUTTNER. Moins de deux heures après la récolte, l'eau était filtrée sur tamis de nylon à mailles de $88\ \mu$ afin d'éliminer le macroseston et de 250 à 500 ml étaient ensuite filtrés sur « Millipore » de $0,5\ \mu$ de porosité. Les membranes filtrantes qui provenaient de la « Millipore S.p.A » étaient constituées d'acétate de cellulose (type EHWP04700) et étaient analysées en même temps que le matériel sans provoquer d'interférence.

Les analyses de pigments chlorophylliens étaient réalisées grâce à la méthode de YENTCH (1965), quelques modifications d'ordre technique permettant d'en augmenter la sensibilité (BAUDOUIN et SCOPPA, 1971). Le principe de base repose sur les caractéristiques de fluorescence des pigments chlorophylliens et il est possible de calculer avec une erreur minimale la quantité de chlorophylle-a et de phéopigments présents dans l'échantillon.

L'azote était déterminé grâce à une méthode de KJELDAHL modifiée par MA et ZUAZAGA (1942) et le phosphore par colorimétrie (BAUDOUIN, 1970).

3. — Résultats et discussion

L'erreur inévitable commise lors de la détermination du poids sec et la présence de détritux sont probablement responsables de la faible corrélation que nous avons trouvée entre le poids sec et la concentration en pigments chlorophylliens et du manque de corrélation entre les concentrations d'azote, phosphore et chlorophylle. La quantité de nannoseston étant toujours très réduite (de l'ordre du mg), il ne nous a pas été possible d'évaluer le contenu en matière organique de ce matériel.

Fig. 1. — Variations de la concentration en pigments chlorophylliens totaux (mg/m^3) de mars 1970 à février 1971 dans le lac de Monate.

La figure 1 donne les variations de concentration des pigments chlorophylliens totaux au cours de l'année d'étude. Nous avons trouvé trois périodes de concentration maximum dues à trois peuplements phytoplanctoniques différents : au printemps (mars et avril), *Asterionella formosa*; en été (juillet et août), *Ceratium hirundinella* et en automne (novembre), *Fragilaria crotonensis*.

La floraison printanière qui est la plus importante, intéresse toute la colonne d'eau et on y rencontre des concentrations de pigments chlorophylliens supérieures à 25 mg/m^3 (le 7 avril, à 7 m : $27,0 \text{ mg/m}^3$ de chlorophylle-a et $0,2 \text{ mg/m}^3$ de phéopigments : phéophorbide et phéophytine).

La floraison estivale se limite aux 15 premiers mètres d'eau et la concentration maximale de chlorophylle totale est de seulement 10 mg/m^3 .

La floraison automnale intéresse les 20 premiers mètres d'eau et les concentrations des pigments chlorophylliens ne dépassent pas 5 mg/m^3 .

Dans les trois cas, les concentrations maximum des pigments chlorophylliens se trouvent dans les 15 premiers mètres d'eau et le « foyer » de ces floraisons se trouve à une profondeur de 7 m. Des analyses de productivité primaire (RAVERA et al., 1971) ont montré que cette zone est la plus active.

En avril et en novembre, la température de l'eau a presque atteint l'isothermie et de ce fait, la distribution des algues sur toute la colonne d'eau se trouve facilitée. En été, par contre, le phytoplancton est concentré surtout dans l'épilimnion.

Si on exclue les trois périodes de floraison, la concentration de pigments chlorophylliens est basse et varie de $0,5$ à 3 mg/m^3 au cours de l'année d'étude.

La figure 2 représente les variations de concentration de chlorophylle-a et de phéopigments rapportées au m^2 , de la température moyenne de l'eau et de l'intensité lumineuse ($\text{cal/cm}^2/\text{jour}$). Les trois périodes de floraison sont clairement en évidence. Il faut remarquer la rapidité du phénomène de floraison : la concentration des pigments chlorophylliens passe de 141 à 454 mg/m^2 en 6 jours (du 1^{er} au 7 avril). Environ 66 % de la quantité annuelle de pigments chlorophylliens du lac de Monate est formée durant ces trois floraisons.

Au cours de l'année, la quantité de phéopigments est peu importante et même négligeable par rapport à la chlorophylle-a et les concentrations les plus élevées sont obtenues immédiatement après les floraisons. Le pourcentage de chlorophylles inactives par rapport à la chlorophylle totale est de 13,2 % dans l'épilimnion, 10,0 % dans le métalimnion et de 20,0 % dans l'hypolimnion. On décèle

FIG. 2. — Variations des concentrations (mg/m^2) en chlorophylle-a (blanc) et de phéopigments (noir) en fonction de l'intensité lumineuse (---) et de la température moyenne de l'eau (---).

FIG. 3. — Variations du facteur acide en fonction de la profondeur et de la saison.

donc une augmentation de la concentration des chlorophylles inactives vers les couches profondes.

Nous avons calculé le facteur acide $\frac{F_o}{F_a}$ (YENTSCH, 1962) c'est-à-

dire le rapport entre l'intensité de fluorescence émise par l'échantillon avant et après acidification, pour les différents échantillons. La figure 3 représente trois courbes de variation de ce facteur en fonction de la profondeur et de la saison. En fin mars, c'est-à-dire au début de la floraison printanière, les facteurs acides sont très élevés et atteignent le maximum dans les conditions où ont été effectuées les analyses (4,25), et ceci même dans les couches les plus profondes et les variations en fonction de la profondeur sont très atténuées. La deuxième courbe se rapporte à fin octobre, quand le lac est stratifié et quand les concentrations de chlorophylle totale sont moyennes. On voit nettement la différence entre les valeurs du rapport $\frac{F_o}{F_a}$ obtenus pour la superficie (environ 2,8) et

les couches profondes (environ 1,6). Plus la profondeur augmente, plus le rapport se rapproche de l'unité. Enfin, quand le lac a atteint l'isothermie et qu'il y a mélange des eaux, le rapport est quasi identique de 0 à 30 m (environ 2,5 à 2,2). Il y a un déplacement du facteur acide moyen vers les valeurs plus basses de mars à janvier. Le facteur acide moyen de la floraison d'été est très voisin de celui de la floraison d'automne (respectivement 2,8 et 3,0) et est beaucoup plus élevé (3,7) pour la floraison de printemps; cette valeur (qui augmente encore si on fait les moyennes au commencement de la floraison) ne se retrouve plus au cours de l'année. C'est donc pendant la période mars-avril que la teneur de chlorophylle-a exprimée en pourcentage de la chlorophylle totale est la plus élevée. Il y a au cours de l'année un abaissement du facteur acide moyen de la superficie vers le fond pendant la stratification du lac et à toutes les profondeurs quand apparaît de nouveau l'isothermie.

On sait que l'accroissement du nombre des individus phytoplanktoniques est dû à l'interaction de trois facteurs principaux : la température, la lumière et la concentration en sels nutritifs.

Pour le lac de Monate, nous n'avons pu déceler aucune accumulation de sels nutritifs avant les floraisons. D'autre part, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la concentration en pigments chlorophylliens et l'intensité lumineuse aux différentes profondeurs étudiées. Mais, il existe une corrélation significative entre la température de l'eau et la concentration de la chlorophylle totale dans les zones superficielles et profondes. Dans la zone moyenne (4-10 m) les variations de concentration en pigments chlorophylliens

sont trop rapides par rapport aux variations de température pour pouvoir mettre cette corrélation en évidence.

LORENZEN (1970) a montré qu'il existe une relation entre la concentration en pigments chlorophylliens à la surface de la mer (mg/m^3) et la concentration des pigments chlorophylliens dans la zone trophique (rapportée au m^2). Nous avons voulu vérifier si ceci est aussi valable pour le lac de Monate et à quelles profondeurs. Les résultats montrent que cette corrélation existe et est hautement significative pour toutes les profondeurs et que, comme le montre la figure 4, l'angle formé par la droite de corrélation diminue quand le pourcentage en phéophytine augmente. C'est à 7 m que cet angle est maximum.

FIG. 4. — Corrélation entre les concentrations en pigments chlorophylliens exprimés en mg/m^2 et en mg/m^3 à différentes profondeurs.

Une étude similaire dans d'autres écosystèmes d'eau douce ou dans un écosystème en pleine évolution permettrait de savoir si les facteurs obtenus varient en fonction des données écologiques. Si malgré les changements du milieu et par conséquent les changements qualitatifs et quantitatifs des populations phytoplanctoniques, les facteurs demeurent stables, il serait possible d'estimer la concentration en phytopigments par m^2 à partir des résultats d'analyses de pigments chlorophylliens de quelques échantillons pris à une profondeur donnée.

4. — CONCLUSIONS

La présence de détritits d'origine animale et minérale dans le nannoseston de dimensions comprises entre 56 et $1\ \mu$ du lac de Monate, rend impossible la détermination biochimique de la biomasse du phytoplancton de cette fraction.

Au cours de l'année, il y a trois périodes de concentration maximum de chlorophylle : au printemps, en été et en automne. La floraison printanière est la plus importante et les concentrations de chlorophylle-a dépassent $25\ \text{mg/m}^3$.

La corrélation entre la concentration en pigments chlorophylliens et la température de l'eau est significative tandis que celle obtenue pour la lumière ou la concentration en sels nutritifs ne l'est pas. Ceci est probablement dû aux amples variations de la concentration de chlorophylle et par conséquent à celles du phytoplancton.

Les résultats obtenus montrent qu'il est possible, comme l'avait suggéré LORENZEN (1970) de calculer la concentration en pigments chlorophylliens par m^2 à partir des résultats de quelques analyses de teneur en chlorophylle d'échantillons pris à une profondeur donnée, grâce à la relation qui existe entre ces deux paramètres.

RÉSUMÉ

La présence probable de détritits d'origine animale et minérale dans le nannoseston du lac de Monate (Italie du Nord) ne nous a pas permis de mettre en évidence les corrélations entre le poids sec et les concentrations de pigments chlorophylliens, d'azote et de phosphore. Toutefois, la détermination de la chlorophylle donne une indication de la concentration d'une eau en phytoplancton.

Des analyses hebdomadaires de pigments chlorophylliens ont permis de mettre en évidence trois périodes de concentration maximum (printemps, été et automne), dues à trois peuplements phytoplanctoniques différents : *Asterionella formosa*, *Ceratium hirundinella* et *Fragilaria crotonensis*. La floraison printanière est la plus importante et les concentrations de chlorophylle-a à 7 m dépassent $25\ \text{mg/m}^3$. La concentration de phéopigments augmente avec la profondeur et la saison (maximum en été).

Il est possible, comme l'avait suggéré LORENZEN (1970), de calculer la concentration moyenne en pigments chlorophylliens par m^2 à partir des résultats de quelques analyses de chlorophylle d'échantillons pris à une profondeur donnée grâce à la relation qui existe entre ces deux paramètres.

**CHLOROPHYLL-a AND PHAEOPHYTIN :
THEIR RELATIONSHIPS WITH THE CONCENTRATIONS
OF NITROGEN AND PHOSPHORUS IN THE SESTON
OF LAKE MONATE (NORTH ITALY)**

The absence of a correlation between dry weight and concentrations of chlorophyll, nitrogen and phosphorus is probably due to the presence of animal and mineral detritus in the nannoseston of Lake Monate. In spite of this, chlorophyll concentration gives an indication of the amount of phytoplankton in a body of water.

The 3 peaks in chlorophyll concentration during the year (Spring, Summer and Autumn) are due respectively to the following species : *Asterionella formosa*, *Ceratium hirundinella* and *Fragilaria crotonensis*. The spring bloom is the most important and chlorophyll a concentration is more than 25 mg/m³ at a depth of 7m. The concentration of phaeopigments increases with depth and season (maximum in Summer).

It was possible to utilise the relationship suggested by LORENZEN (1970), and calculate the mean concentration of chlorophyll per m² from analyses of samples collected at given depths.

**DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN CHLOROPHYLL-a-
SOWIE PHAEOPHYTINKONZENTRATION UND DEM STICKSTOFF-
SOWIE PHOSPHORGEHALT DES SESTON IM MONATESEE
(NORDITALIEN)**

Aufgrund des hohen Anteils an organischem und anorganischem Detritus im Nannoseston ließ sich keine Beziehung zwischen der Konzentration der Chlorophyll-Pigmente und dem Trockengewicht sowie der Stickstoff- und Phosphorkonzentration aufstellen. Die Bestimmung des Chlorophylls gibt jedoch eine brauchbare Indikation der Phytoplanktonkonzentration. Wöchentlich durchgeführte Bestimmungen der Chlorophyll-Pigmente ermöglichten den Nachweis von drei « blooms » (Frühjahr, Sommer, Herbst), die durch drei verschiedene Phytoplanktonpopulationen verursacht werden : *Asterionella formosa*, *Ceratium hirundinella* und *Fragilaria crotonensis*.

Aus einigen Chlorophyllbestimmungen von Proben, die aus vorgegebener Tiefe entnommen werden, kann man, wie von LORENZEN (1970) aufgrund des Zusammenhanges zwischen beiden Parametern vorgeschlagen, die Konzentration an Chlorophyll-Pigmenten pro Quadratmeter errechnen.

TRAVAUX CITÉS

- ARUGA (Y.) et MONSI (M.). 1963. — Chlorophyll amount as an indicator of matter productivity in bio-communities. *Plant Coll. Physiol.*, 4 : 29-39.
- BAUDOUIN (M.F.). 1970. — Sulla determinazione del fosforo totale in ambiente oligotrofo. *Atti convegno FAST-Bormio Luglio 1970*.

- BAUDOUIN (M. F.) et SCOPPA (P.). 1971. — Fluorometric determination of chlorophyll-a in the presence of pheopigments : effects of the half value width of the excitation beam. *Mar. Biol.*, **10** : 66-69.
- BECACOS (T.). 1962. — Azione di alcune sostanze inorganiche sull'attività fotosintetica in due laghi dell'alta Italia. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **15** : 45-68.
- BERARDI (A.) et TONOLLI (V.). 1953. — Clorofilla, fitoplancton e vicende meteorologiche (Lago Maggiore). *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **7** : 165-187.
- GESSNER (F.). 1944. — Der Chlorophyllgehalt der Seen ab Ausdruck ihres Produktivitat. *Arch. Hydrobiol.*, **40** : 687-732.
- JUDAY (C.), BLAIR (J.) et WILDA (E. F.). 1943. — The photosynthetic activities of aquatic plants of little John Lake Vilas Coutty, Wisconsin. *The Amer. Midland Naturalist*, **30** : 233-248.
- KOZMINSKI (Z.). 1938. — Amount of the chlorophyll and its distribution in some lakes Northern Wisconsin. *Trans. Wisc. Acad. Sci. Arts and Letters*, **31** : 411-438.
- LORENZEN (C.). 1970. — Surface chlorophyll as an index of the depth, chlorophyll content and primary productivity of the eutrophic layer. *Limn. Oceanogr.*, **15** : 479-480.
- MA (T. S.) et ZUAZAGA (G.). 1942. — Micro-Kjeldahl determination of nitrogen. *Industr. and Engineer. Chemistry*, **14** : 280-282.
- MANNING (M. W.) et JUDAY (R. E.). 1941. — The chlorophyll content and productivity of some lakes in Southeastern Wisconsin. *Trans. Wisc. Acad. Sci. Arts and Letters*, **33**.
- NALEWAJO (C.). 1966. — Dry weight, ash and volume data for some fresh water planktonic algae. *J. Fish Res. Bd. Can.*, **23** : 1285-1288.
- PARSONS (T. R.), STEPHENS (K.) et STRICKLAND (J. D. H.). 1961. — On the chemical composition of eleven species of marine plankters. *J. Fish Res. Bd. Can.*, **18** : 1001-1016.
- PAVONI (M.). 1969. — The determination of the biomass and the nitrogen content of plankton and its practical application. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **17** : 987-997.
- PAVONI (M.). 1969. — Beziehung zwischen Biomasse und Stickstoffgehalt des Phytoplanktons und die daraus ableibare Anwendung der der Bestimmungsmethoden für die Praxis. *Hydrobiologie*, **31** : 110-127.
- RAVERA (O.), DE ANGELI (P.) et BAUDOUIN (M. F.). 1971. — La production primaire du lac de Monate. En préparation.
- SAKAMOTO (M.). 1966. — The chlorophyll amount in the eutrophic zone in some Japanese lakes and its significance in the photosynthetic production of phytoplankton communities. *The Bot. Magazine, Tokyo*, **79** (932-933) : 77-88.
- VOLLENWEIDER (R.). 1956. — Das Strahlungsklima des Lago Maggiore und seine Bedeutung für die photosynthese des Phytoplankton. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **9** : 293-362.
- VOLLENWEIDER (R.). 1968. — Recherches sur l'aménagement de l'eau. *Rapp. O.E.C.D., Das/CSI/68-27*.
- YENTSCH (C. S.). 1962. — Environmental physiology of marine plankton. In *Biochemistry and Physiology of Marine Algae*. R. A. ed. Academic Press, New York, pp. 771-797.
- YENTSCH (C. S.). 1965. — Distribution of chlorophyll and pheophytin in open ocean. *Deep-Sea Res.*, **12** : 653-666.