

UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL

UNIVERSITÉ D'AUVERGNE

N° d'ordre: 936

Année 1997

**ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ**

N° d'ordre: 220

Thèse

Présentée à l'Université Blaise Pascal
pour l'obtention du grade de Docteur d'Université

Spécialité: Biologie des populations et écologie

Soutenue le 26 Septembre 1997

Par

CHARPIN Marie-Françoise

**Les activités enzymatiques Nitrate-Réductase, Glutamine-Synthétase et
Glutamate-Déshydrogénase: intérêts pour l'étude du métabolisme de
l'azote minéral des peuplements phytoplanctoniques lacustres.**

Président: Jacques BOHATIER Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand)

Membres: Gilles BOURDIER Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand)

Jean DEVAUX Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand)

Anne-Marie TRIBOÏ (INRA-Crouel)

Rapporteurs: Daniel BONIN Université de la Méditerranée (Aix-Marseille)

Alain DAUTA Université Paul Sabatier (Toulouse)

Laboratoire de Biologie Comparée des Protistes UPRES A CNRS 6023

Mots clés: Lac d'Aydat, Lac Pavin, azote, état nutritionnel, assimilation, absorption.

Résumé: Dans l'optique d'une meilleure compréhension du métabolisme de l'azote minéral des communautés phytoplanctoniques lacustres, nous avons mesuré l'activité de trois enzymes clés du métabolisme de cet élément chimique: la Nitrate-Réductase (NR), la Glutamine-Synthétase (GS) et la Glutamate Déshydrogénase (GDH). Une étude comparée a été réalisée entre un écosystème eutrophe, le lac d'Aydat et un écosystème oligo-mésotrophe, le lac Pavin.

La NR et la GDH présentent les caractéristiques d'enzymes inductibles alors que la GS semble constitutive. Ainsi, conformément aux résultats rapportés dans la littérature, la voie principale d'assimilation de l'ammonium dans le pool d'acide aminés intracellulaire semble être la voie GS/GOGAT. L'apparition des activités NR et GDH ne peut être reliée directement avec les teneurs en éléments nutritifs azotés dans le milieu. Cependant, l'activité spécifique de ces trois enzymes dépend non seulement des concentrations en ammonium et nitrates dans le milieu et de leur rapport mais également de la composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques et de leur métabolisme photosynthétique.

Les rapports d'activité NR/GS et NR/GS+GDH ne permettent pas de déterminer la part potentiellement représentée par les nitrates ou l'ammonium dans la nutrition minérale azotée du phytoplancton. En effet, les mesures des activités enzymatiques potentielles reflètent plus les capacités maximales de réduction des nitrates ou d'assimilation de l'ammonium des communautés phytoplanctoniques que les taux physiologiques de ces processus *in situ*. De plus, les paramètres étudiés ne permettent pas de déterminer si la GDH fonctionne dans le sens anabolique ou catabolique.

La méthode isotopique indirecte utilisée afin d'estimer l'absorption de l'azote minéral par le phytoplancton semble largement surestimer cette dernière. Aussi, la comparaison de ces estimations avec les activités GS et GS+GDH ne permet pas d'affirmer que la mesure de ces activités enzymatiques représente une estimation de l'assimilation de l'azote minéral par les communautés phytoplanctoniques lacustres.

Les peuplements phytoplanctoniques du lac Pavin, soumis à une limitation relative en azote plus importante qu'au lac d'Aydat, s'adaptent à cette contrainte environnementale en présentant une activité NR leur permettant de métaboliser la forme d'élément nutritif azoté la plus abondante dans cet écosystème (les nitrates) et en augmentant l'activité spécifique de la GS. Cependant, la seule détermination des activités spécifiques de la NR, de la GS et de la GDH ne semble pas constituer un indicateur de l'état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote.

SOMMAIRE.....	5
Chapitre 1 - INTRODUCTION.....	19
1. 1 - INTRODUCTION.....	20
1. 2 - LES PRINCIPALES ÉTAPES MÉTABOLIQUES DE L'UTILISATION DE L'AZOTE PAR LE PHYTOPLANCTON	21
1. 3 - LES PRINCIPALES VOIES ENZYMATIQUES DE LA CONVERSION EN AMMONIUM ET DE L'ASSIMILATION DE L'AZOTE MINÉRAL	24
1. 4 - PROBLÉMATIQUE ET ORGANISATION GÉNÉRALE DE LA THÈSE	26
Chapitre 2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES	29
2. 1 - PRÉSENTATION DES SITES D'ÉTUDES	30
2. 1. 1 - Le lac d'Aydat	30
2. 1. 2 - Le lac Pavin	30
2. 2 - STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE	32
2. 3 - MÉTHODES DE PRÉLÈVEMENT ET DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS.....	32
2. 3. 1 - Méthode de prélèvement	32
2. 3. 2 - Traitement et conservations des échantillons	33
2. 3. 2. 1 - Échantillons destinés à l'analyse des paramètres chimiques et biotiques.....	33
2. 3. 2. 2 - Échantillons destinés au dénombrement cellulaire	33
2. 4 - MESURE DES PARAMÈTRES ABIOTIQUES	33
2. 4. 1 - Examen physique	33
2. 4. 1. 1 - Température.....	33
2. 4. 1. 2 - Turbidité.....	34
2. 4. 1. 3 - Énergie lumineuse	34
2. 4. 2 - Examen chimique.....	34
2. 4. 2. 1 - Oxygène dissous	34
2. 4. 2. 2 - pH.....	34
2. 4. 2. 3 - Titre alcalimétrique complet (TAC)	34
2. 4. 2. 4 - Ammonium.....	35
2. 4. 2. 5 - Nitrites	35
2. 4. 2. 6 - Nitrates	36
2. 4. 2. 7 - Azote minéral (Nm).....	37
2. 4. 2. 8 - Azote total dissous (N-tot).....	37

2. 5 - MESURE DES PARAMÈTRES BIOTIQUES	37
2. 5. 1 - Dénombrements cellulaires	37
2. 5. 2 - Dosage des pigments photosynthétiques	37
2. 5. 3 - Dosages des acides aminés et protéines intracellulaires.....	38
2. 5. 3. 1- Séparation des acides aminés et des protéines	38
2. 5. 3. 2 - Mesure des concentrations en acides aminés intracellulaires	40
2. 5. 3. 3 - Mesure des concentrations en protéines intracellulaires.....	40
2. 5. 3. 4 - Efficacité du protocole de séparation des acides aminés et des protéines.....	41
2. 5. 4 - Mesure de l'activité photosynthétique et de l'incorporation de carbone dans les produits terminaux de la photosynthèse	43
2. 5. 4. 1 - Détermination de l'activité photosynthétique	45
2. 5. 4. 2 - Estimation de la répartition du carbone minéral dans les macromolécules	45
2. 5. 4. 3 Évolution temporelle de l'incorporation de la radioactivité dans les produits terminaux de la photosynthèse	47
2. 5. 4. 2 - Reproductibilité des résultats	49
2. 5. 5 - Estimation de l'absorption d'azote (N-uptake).....	50
2. 5. 5. 1 - Principe	50
2. 5. 5. 2 - Estimation du taux de "turn-over" protéique.....	51
2. 5. 5. 3 - Influence de la porosité des filtres	52
2. 5. 6 - Mesure de l'activité Nitrate-Réductase (NR)	53
2. 5. 6. 1 - Principe	53
2. 5. 6. 2 - Protocole de dosage	53
2. 5. 6. 3 - Calcul de l'activité enzymatique dans les échantillons.....	55
2. 5. 7 - Mesure de l'activité Glutamine-Synthétase (GS)	56
2. 5. 7. 1 - Les différentes méthodes de dosage de l'activité GS	56
2. 5. 7. 2 - Choix du protocole de dosage	58
2. 5. 7. 3 - Influence du type d'extrait enzymatique sur l'activité GS	59
2. 5. 7. 4 - Influence du pH du milieu réactionnel sur l'activité GS	60
2. 5. 7. 5 - Influence de la température d'incubation sur l'activité GS	60
2. 5. 7. 6 - Influence de la durée d'incubation sur l'activité GS	61
2. 5. 7. 7 - Influence des concentrations en substrat et cofacteur sur l'activité GS	63
2. 5. 7. 8 - Protocole retenu pour doser l'activité GS	65
2. 5. 7. 9 - Effet du stockage des échantillons sur l'activité GS	67
2. 5. 7. 10- Reproductibilité des résultats	68

2. 5. 8 - Mesure de l'activité Glutamate-Déshydrogénase (GDH)	68
2. 5. 8. 1 - Principe	68
2. 5. 8. 2- Protocole de dosage	68
 2. 6 - INTERFÉRENCES ZOOPLANCTONIQUE ET BACTÉRIENNE DANS LES ÉCHANTILLONS	70
2. 6. 1 - Interférences zooplanctoniques	70
2. 6. 2 - Interférences bactériennes	71
 Chapitre 3 - ÉVOLUTION ANNUELLE DES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES DEUX ÉCOSYSTÈMES ÉTUDIÉS.....	74
 3. 1 - CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES	75
3. 1. 1 - Lac d'Aydat.....	75
3. 1. 1. 1 - Température.....	75
3. 1. 1. 2 -Turbidité	75
3. 1. 1. 3 - Profondeur de compensation photique	75
3. 1. 2 - Lac Pavin.....	77
3. 1. 2. 1- Température	77
3. 1. 2. 2-Turbidité	79
3. 1. 2. 3 - Profondeur de compensation photique	79
 3. 2 - CARACTÉRISTIQUES CHIMIQUES	80
3. 2. 1 - Lac d'Aydat.....	80
3. 2. 1. 1 - Concentrations en oxygène dissous.....	80
3. 2. 1. 2 - pH	80
3. 2. 1. 3 - Titre alcalimétrique complet (TAC).....	82
3. 2. 1. 4 - Concentrations en nitrates	82
3. 2. 1. 5 - Concentrations en nitrites	84
3. 2. 1. 6 - Concentrations en ammonium	84
3. 2. 1. 7 - Proportion relative des différentes formes d'azote minéral (Nm).....	85
3. 2. 1. 8 - Concentrations en azote total dissous (N-total)	86
3. 2. 2 - Lac Pavin	88
3. 2. 2. 1 - Concentrations en oxygène dissous.....	88
3. 2. 2. 2- pH	88
3. 2. 2. 3-Titre alcalimétrique complet (TAC).....	88
3. 2. 2. 4 - Concentrations en nitrates	90
3. 2. 2. 5 - Concentrations en nitrites	92
3. 2. 2. 6 - Concentrations en ammonium.....	92
3. 2. 2. 7 - Proportion relative des différentes formes d'azote minéral (Nm).....	92
3. 2. 2. 8- Concentrations azote total dissous	92
 3. 3 - CONCLUSIONS	94

Chapitre 4 - DYNAMIQUE DES POPULATIONS ET ÉVOLUTION SPATIO-TEMPORELLE DES TENEURS EN PIGMENTS ET EN COMPOSÉS AZOTÉS 97

4. 1 - PEUPLEMENTS PHYTOPLANCTONIQUES	98
4. 1. 1 - Lac d'Aydat.....	98
4. 1. 2 - Lac Pavin.....	101
4. 1. 3 - Discussion	104
4. 2 - TENEURS EN PIGMENTS ET EN COMPOSÉS AZOTÉS	105
4. 2. 1 - Lac d'Aydat.....	105
4. 2. 1. 1 - Teneurs en chlorophylle a	105
4. 2. 1. 2 - Teneurs en carotenoides	107
4. 2. 1. 3 - Concentrations en proteines particulaires	107
4. 2. 1. 4 - Concentrations en acides aminés intracellulaires.....	107
4. 2. 2 - Au lac Pavin.....	109
4. 2. 2. 1 - Teneurs en chlorophylle a	109
4. 2. 2. 2 - Teneurs en carotenoides	109
4. 2. 2. 3 - Concentrations en proteines particulaires	109
4. 2. 2. 4 - Concentrations en acides aminés intracellulaires.....	111
4. 3 - DISCUSSION	111
4. 3. 1 - Relations biomasse-teneurs en pigments	113
4. 3. 2 - Relations biomasse-concentrations en proteines particulaires	114
4. 3. 3 - Relations teneurs en pigments-concentrations en proteines particulaires	115
4. 3. 4 - Conclusions	115

Chapitre 5 - ÉVOLUTION ANNUELLE DE DIFFÉRENTS INDICATEURS DE L'ÉTAT NUTRITIONNEL DES COMMUNAUTÉS PHYTOPLANCTONIQUES PAR RAPPORT À L'AZOTE..... 117

5. 1 - INTRODUCTION.....	118
5. 2 - LAC D'AYDAT	119
5. 2. 1 - Rapport d'absorbance à 480nm sur celle à 665 nm (480/665)	119
5. 2 . 1 - Rapport des concentrations acides aminés intracellulaires sur celles des proteines particulaires (aa/pro).....	121

5.3 - LAC PAVIN.....	121
5.3.1 - Rapport d'absorbance à 480nm sur celle à 665 nm (480/665).....	121
5.3.2 - Rapport des concentrations acides aminés intracellulaires sur celles des protéines particulières (aa/pro).....	121
5.4 - DISCUSSION	123
5.4.1 - Rapport d'absorbance: 480/665.....	123
5.4.2 - Rapport aa/pro	124
5.4.3 - Indicateurs de l'état nutritionnel et ressources en azote du milieu	125
5.5 - CONCLUSIONS	127

Chapitre 6 - ÉTUDE ANNUELLE DU MÉTABOLISME PHOTOSYNTHÉTIQUE DU PHYTOPLANCTON ET DE L'ABSORPTION DE L'AZOTE MINÉRAL..... 130

6.1 - ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE GLOBALE ET INCORPORATION DU CARBONE MINÉRAL DANS LES MACROMOLÉCULES ET LES COMPOSÉS DE FAIBLE POIDS MOLÉCULAIRE.....	131
6.1.1 - Introduction.....	131
6.1.2 - Lac d'Aydat	133
6.1.2.1 - Activité photosynthétique.....	133
6.1.2.2 - Incorporation du carbone minéral dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (LMW)	135
6.1.3 - Lac Pavin.....	136
6.1.3.1 - Activité photosynthétique.....	136
6.1.3.2 - Incorporation du carbone minéral dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (LMW)	138
6.1.4 - Discussion.....	139
6.1.4.1 - Répartition du carbone minéral dans les produits terminaux de la photosynthèse et température	140
6.1.4.2 - Répartition du carbone minéral dans les produits terminaux de la photosynthèse et intensité lumineuse.....	141
6.1.4.3 - Répartition du carbone minéral dans les produits terminaux de la photosynthèse et disponibilité en azote dans le milieu	142
6.1.4.4 - Répartition du carbone minéral dans les produits terminaux de la photosynthèse et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	143

6. 1. 4. 5 - Répartition du carbone minéral dans les produits terminaux de la photosynthèse et indicateurs de l'état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote.	144
6. 1. 5 - Conclusions	146
6. 2 - ESTIMATION DE L'ABSORPTION DE L'AZOTE MINÉRAL	148
6. 2. 1 - Introduction.....	148
6. 2. 2 - Lac d'Aydat	149
6. 2. 3 - Lac Pavin.....	151
6. 2. 4 - Discussion.....	152
6. 2. 4. 1 - Absorption de l'azote minéral et température	153
6. 2. 4. 2 - Absorption de l'azote minéral et disponibilité en azote dans le milieu	155
6. 2. 4. 3 - Absorption de l'azote minéral et composition spécifique des peuplements	156
6. 2. 5 - Conclusions	156
 Chapitre 7 - ÉTUDE ENZYMATIQUE DU MÉTABOLISME DE L'AZOTE MINÉRAL : VARIATIONS ANNUELLES.....	159
7. 1 - INTRODUCTION	160
7. 2 - ACTIVITÉ NITRATE-RÉDUCTASE (NR)	161
7. 2. 1 - Lac d'Aydat	161
7. 2. 1. 1 - Activité NR potentielle	161
7. 2. 1. 2- Activité spécifique NR potentielle (NRs).....	161
7. 2. 2 - Lac Pavin.....	163
7. 2. 2. 1 - Activité NR potentielle	163
7. 2. 2. 2- Activité spécifique NR potentielle (NRs).....	165
7. 2. 3 - Discussion.....	165
7. 2. 3. 1 - Activité NR et biomasse phytoplanctonique	166
7. 2. 3. 2- Activité NRs et énergie lumineuse.....	167
7. 2. 3. 3- Activité NRs et ressource en azote dans le milieu.....	168
7. 2. 3. 4 - Activité NRs et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	171
7. 2. 3. 5 - Activité NRs et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote	172
7. 2. 3. 6 - Activité NRs et métabolisme du carbone minéral	173
7. 2. 4 - Conclusions	174

7.3 - ACTIVITÉ GLUTAMINE-SYNTHÉTASE (GS)	179
7.3.1 - Lac d'Aydat	179
7.3.1.1 - Activité GS potentielle	179
7.3.1.2 - Activité spécifique GS potentielle (GS s)	179
7.3.2 - Lac Pavin.....	181
7.3.2.1 - Activité GS potentielle	181
7.3.2.2 - Activité spécifique GS potentielle (GS s).....	183
7.3.3 - Discussion.....	183
7.3.3.1 - Activité GS potentielle et biomasse phytoplanctonique	185
7.3.3.2 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et intensité lumineuse.....	186
7.3.3.3 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et ressources en azote du milieu.....	187
7.3.3.4 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	189
7.3.3.5 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et métabolisme du carbone minéral	190
7.3.3.6 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel des cellules par rapport à l'azote	191
7.3.4 - Conclusions	192
 7.4 - ACTIVITÉ GLUTAMATE-DÉSHYDROGÉNASE (GDH).....	195
7.4.1 - Lac d'Aydat	195
7.4.1.1- Activité GDH potentielle	195
7.4.1.2- Activité spécifique GDH potentielle (GDHs).....	195
7.4.2 - Lac Pavin.....	197
7.4.2.1 - Activité GDH potentielle.....	197
7.4.2.1 - Activité GDH spécifique (GDHs).....	199
7.4.3 - Discussion.....	199
7.4.3.1 - Activité GDH potentielle et biomasse phytoplanctonique	200
7.4.3.2 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et intensité lumineuse.....	201
7.4.3.3 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et ressources en azote du milieu.....	201
7.4.3.4 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	204
7.4.3.5 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et métabolisme du carbone minéral	205
7.4.3.6 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel des cellules par rapport à l'azote	206
7.4.4 - Conclusions	206

7. 5 - IMPORTANCE RELATIVE DES ACTIVITÉS GS ET GDH.....	210
7. 5. 1 - Lac d'Aydat	210
7. 5. 2 - Lac Pavin.....	210
7. 5. 3 - Discussion.....	212
7. 5. 3. 1 - Importance relative des activités GS et GDH et facteurs abiotiques	212
7. 5. 3. 2 - Importance relative des activités GS et GDH et facteurs biotiques	213
7. 5. 4 - Conclusions	213
 7. 6 - ESTIMATION ENZYMATIQUE DE L'ASSIMILATION DE L'AZOTE MINÉRAL	219
7. 6. 1 - Introduction.....	219
7. 6. 2 - Estimation de l'assimilation de l'azote minéral à l'aide de la somme des activité GS et GDH	220
7. 6. 2. 1 - Lac d'Aydat	220
7. 6. 2. 1. 1 - Somme des activités potentielles (GS+GDH).....	220
7. 6. 2. 1. 2 - Somme des activités spécifiques (GSs+GDHs) potentielles.....	220
7. 6. 2. 2 - Lac Pavin.....	222
7. 6. 2. 2. 1 - Somme des activités potentielles (GS+GDH).....	222
7. 6. 2. 2. 2 - Somme des activités spécifiques (GSs+GDHs) potentielles.....	222
7. 6. 2. 3 - Discussion	224
7. 6. 2. 3. 1 - Somme des activités potentielles de la GS et de la GDH et biomasse phytoplanktonique	224
7. 6. 2. 3. 2 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et ressources en azote dans le milieu	225
7. 6. 2. 3. 3 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et composition spécifique des peuplements	226
7. 6. 2. 3. 4 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et autres paramètres biotiques	227
7. 6. 3 - Comparaison des deux estimations enzymatiques de l'assimilation de l'azote minéral	227
7. 6. 4 - Conclusions	232
 7. 7 - IMPORTANCE RELATIVE DE L'UTILISATION DES NITRATES DANS L'ASSIMILATION DE L'AZOTE MINÉRAL	234
7. 7. 1 - Introduction.....	234
7. 7. 2 - Lac d'Aydat	234
7. 7. 3 - Lac Pavin.....	236
7. 7. 4 - Discussion.....	238
7. 7. 4. 1 - Assimilation relative des nitrates et ressources en azote du milieu.....	238

7. 7. 4. 2- Assimilation relative des nitrates et composition taxonomique des peuplements phytoplanctoniques	238
7. 7. 4. 3 - Assimilation relative des nitrates et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel par rapport à l'azote	239
7. 7. 5 - Conclusions	239
 7. 8 - COMPARAISON DES MÉTHODES ISOTOPIQUES INDIRECTES ET ENZYMATIQUES POUR ESTIMER L'UTILISATION DE L'AZOTE MINÉRAL PAR LE PHYTOPLANCTON.....	242
7. 8. 1 - Introduction.....	242
7. 8. 2 - Lac d'Aydat	243
7. 8. 3 - Lac Pavin.....	244
7. 8. 4 - Discussion.....	245
7. 8. 5- Conclusions	250

Chapitre 8 - ÉTUDE NYCTHÉMÉRALE DU MÉTABOLISME DE L'AZOTE MINÉRAL DU PHYTOPLANCTON DU LAC PAVIN. 253

8. 1 - INTRODUCTION	254
 8. 2 - CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES	254
8. 2. 1 - Température	254
8. 2. 2 - Pénétration de l'énergie lumineuse.....	254
8. 2. 3 - Turbidité	257
8. 2. 4 - Concentrations en oxygène dissous.....	257
8. 2. 5 - pH	259
8. 2. 6 - Titre alcalimétrique complet (TAC).....	259
8. 2. 7 - Concentrations en composés azotés	260
8. 2. 8 - Conclusions	260
 8. 3 - CARACTÉRISTIQUES BIOTIQUES	261
8. 3. 1 - Peuplements phytoplanctoniques.....	261
8. 3. 2 - Teneurs en pigments	265
8. 3. 2. 1 - Teneurs en chlorophylle a	265
8. 3. 2. 2 - Teneurs en carotenoides.....	265
8. 3. 3 - Teneurs en composés azotés	267
8. 3. 3. 1 - Concentrations en protéines particulières	267
8. 3. 3. 2 - Concentrations en acides aminés intracellulaires.....	267
8. 3. 4 - Conclusions	269
 8. 4 - INDICATEURS DE L'ÉTAT NUTRITIONNEL DES COMMUNAUTÉS PHYTOPLANCTONIQUES PAR RAPPORT A L'AZOTE.....	271

8. 4. 1 - Rapport d'absorbance à 480nm sur celle à 665nm	271
8. 4. 2 - Rapport des concentrations en acides aminés intracellulaires sur celles des protéines particulières (aa/pro)	273
8. 4. 3 - Discussion	273
8. 4. 3. 1 - Rapport d'absorbance: 480/665	273
8. 4. 3. 2 - Rapport aa/pro	275
8. 4. 3. 3 - Conclusions	277
 8. 5 - ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE GLOBALE ET INCORPORATION DU CARBONE MINÉRAL DANS LES MACROMOLÉCULES ET LES COMPOSÉS DE FAIBLE POIDS MOLECULAIRE	278
8. 5. 1 - Activité photosynthétique	279
8. 5. 2 - Incorporation du carbone minéral dans les macromolécules et les composés de faible poids moléculaire (LMW)	279
8. 5. 3 - Discussion	282
8. 5. 3. 1 - Activité photosynthétique du phytoplancton et paramètres abiotiques	283
8. 5. 3. 2 - Métabolisme photosynthétique du phytoplancton et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	284
8. 5. 4 - Conclusion	285
 8. 6 - ESTIMATION ISOTOPIQUE INDIRECTE DE L'ABSORPTION DE L'AZOTE MINÉRAL	286
8. 6. 1 - Absorption de l'azote minéral	286
8. 6. 2 - Discussion	288
 8. 7 - ACTIVITÉ NITRATE RÉDUCTASE (NR)	289
 8. 8 - ACTIVITÉ GLUTAMINE-SYNTHÉTASE (GS)	290
8. 8. 1 - Activité GS potentielle	290
8. 8. 2 - Activité GS potentielle spécifique (GS s)	292
8. 8. 3 - Discussion	292
8. 8. 3. 1 - Activité GS potentielle et biomasse phytoplanctonique	292
8. 8. 3. 2 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et facteurs abiotiques	293
8. 8. 3. 3 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	293
8. 8. 3. 4 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et métabolisme du carbone minéral	294
8. 8. 3. 5 - Activité spécifique GS potentielle (GSs) et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote	295
8. 8. 4 - Conclusions	295

8. 9 - ACTIVITÉ GLUTAMATE DÉSHYDROGÉNASE (GDH)	296
8. 9. 1 - Activité GDH potentielle.....	296
8. 9. 2 - Activité GDH potentielle spécifique (GDHs).....	296
8. 9. 3 - Discussion.....	298
8. 9. 3. 1 - Activité GDH potentielle et biomasse phytoplanctonique	298
8. 9. 3. 2 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et facteurs abiotiques	298
8. 9. 3. 3 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	299
8. 9. 3. 4 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et métabolisme du carbone minéral	300
8. 9. 3. 5 - Activité spécifique GDH potentielle (GDHs) et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel des cellules par rapport à l'azote	300
8. 9. 1 - Conclusions	301
8. 10 - IMPORTANCE RELATIVE DES ACTIVITÉS GS ET GDH.....	302
8. 10. 1 - Contribution relative (%) de l'activité GS à la somme des activités GS+GDH	302
8. 10. 2 - Discussion.....	302
8. 10. 2. 1 - Importance relative des activités GS-et GDH et facteurs abiotiques	302
8. 10. 2. 2 - Importance relative des activités GS et GDH et composition taxonomique des peuplements phytoplanctoniques	304
8. 10. 2. 3 - Importance relative des activités GS et GDH et métabolisme photosynthétique du phytoplancton.....	305
8. 10. 2. 4 - Importance relative des activités GS et GDH et paramètre indicateur de l'état nutritionnel par rapport à l'azote	305
8. 10. 3 - Conclusions	306
8. 11 - ESTIMATIONS ENZYMATIQUES DE L'ASSIMILATION DE L'AZOTE MINÉRAL	306
8. 11. 1 - Estimation de l'assimilation de l'azote minéral à l'aide de la somme des activité GS et GDH	306
8. 11. 1. 1 - Somme des activités potentielles (GS+GDH)	306
8. 11. 1. 2 - Somme des activités spécifiques (GSs+GDHs) potentielles	306
8. 11. 2 - Discussion.....	309
8. 11. 2. 1 - Somme des activités potentielles de la GS et de la GDH et biomasse phytoplanctonique	309
8. 11. 2. 2 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et paramètres abiotiques	309

8. 11. 2. 3 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et composition spécifique des peuplements phytoplanctoniques	309
8. 11. 2. 4 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et activité photosynthétique du phytoplancton.....	310
8. 11. 2. 5 - Somme des activités spécifiques GSs et GDHs potentielles et paramètres indicateurs de l'état nutritionnel par rapport à l'azote	310
8. 11. 3 - Comparaison des deux estimations enzymatiques de l'assimilation de l'azote minéral	311
8. 12 - COMPARAISON DES MÉTHODES ISOTOPIQUES INDIRECTES ET ENZYMATIQUES POUR ESTIMER L'UTILISATION DE L'AZOTE MINÉRAL PAR LE PHYTOPLANCTON.....	314
8. 12. 1 - Rapport absorption sur assimilation de l'azote minéral	314
8. 12. 2 - Discussion.....	316
8. 12. 3- Conclusions	317
8. 13 - DISTRIBUTION DE LA BIOMASSE ZOOPLANCTONIQUE ET UTILISATION DE L'AZOTE MINÉRAL.....	318
8. 13. 1 - Introduction.....	318
8. 13. 2 - Méthodes de prélèvement et de mesure de la biomasse zooplanctonique	319
8. 13. 2. 1 - Prélèvements et conservation des échantillons	319
8. 13. 2. 2 - Détermination de la composition taxonomique de la communauté zooplanctonique.....	320
8. 13. 2. 3 - Détermination de la biomasse zooplanctonique	320
8. 13. 3 - Composition taxonomique et distribution spatio- temporelle de la communauté zooplanctonique	320
8. 13. 3. 1 - Composition taxonomique du peuplement zooplanctonique.....	320
8. 13. 3. 2 - Distribution spatio-temporelle de la biomasse zooplanctonique.....	321
8. 13. 4 - Distribution de la biomasse zooplanctonique et utilisation de l'azote minéral.....	323
8. 13. 5 - Conclusions	324

Chapitre 9 - DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 326

9. 1 - LES ENZYMES CLEFS DU MÉTABOLISME DE L'AZOTE MINÉRAL: NR, GS ET GDH.	327
9. 1. 1 - Enzymes inductibles ou constitutives?	327
9. 1. 2 - Rôle des éléments nutritifs azotés dans l'apparition d'une activité NR ou GDH	329

9. 1. 2. 1 - Activité Nitrate-Réductase	329
9. 1. 2. 2 - Activité Glutamate-Déshydrogénase	330
9. 1. 2. 3 - Conclusions	332
9. 1. 3 - Les facteurs modulant les activités enzymatiques de la NR, GS et GDH	332
9. 1. 2. 1 - Activités enzymatiques et concentrations en éléments nutritifs azotés dans le milieu	333
9. 1. 2. 2 - Activités enzymatiques et énergie lumineuse	334
9. 1. 2. 3 - Activités enzymatiques et composition taxonomique des communautés phytoplanctoniques	335
9. 1. 2. 4 - Activités enzymatiques et métabolisme du carbone minéral	336
9. 1. 4 - Conclusions	336
 9. 2 - ACTIVITÉS NR, GS ET GDH POTENTIELLES ET UTILISATION DE L'AZOTE MINÉRAL	337
9. 2. 1 - Activités enzymatiques potentielles et absorption de l'azote minéral.	338
9. 2. 2 - Activités enzymatiques potentielles et importance relative de l'utilisation des nitrates dans l'assimilation de l'azote minéral.	340
9. 2. 3 - Conclusions.	340
 9. 3 - LES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES SPÉCIFIQUES DE LA NR, DE LA GS ET LA GDH: OUTILS ÉCOLOGIQUES?	341
9. 3. 1 - Activités enzymatiques et source d'azote utilisée par le phytoplancton	342
9. 3. 2 - Activités enzymatiques spécifiques et état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote	343
9. 3. 2. 1- État nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote.	343
9. 3. 2. 2 - Activités enzymatiques et état nutritionnel des communautés phytoplanctoniques par rapport à l'azote.	344
9. 3. 3 - Conclusions	345
 9. 4 - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	346
 BIBLIOGRAPHIE	348
 ANNEXE	365
 RÉSUMÉS	371