

HIGH FREQUENCY FLUX (H. F. F.)

**Données hydrologiques, chimiques et
biologiques des campagnes HFF Pélagos**

Traitement des données : F. DIAZ
P. CONAN

Chef de mission : F. VAN WAMBEKE
Responsable scientifique : P. RAIMBAULT

MATER (MAST III)

PNOC (IFREMER -INSU)

Introduction

L'opération HFF (High Frequency Flux), pilotée par le programme MATER (MAST III) en collaboration avec le programme PNOC, proposait d'étudier dans un système tridimensionnel, les mécanismes contrôlant les flux particulaires ainsi que la réponse benthique à l'échelle de quelques jours au niveau d'une marge continentale. Cette opération s'articulait autour de quatre grands volets expérimentaux dont le principal était HFF Pièges. Deux autres volets avaient pour but de corrélérer les flux de matière à la réponse benthique (HFF Benthos) et de caractériser les masses d'eau (HFF Traceurs). Enfin, le volet Pelagos devait quantifier avec un maximum de précision spatiale et temporelle, les termes d'entrées biologiques dans la boîte tridimensionnelle et de mieux cerner les effets de la variabilité biologique des couches superficielles sur les flux particulaires.

Six sorties ont été effectuées sur une période d'un mois et demi (15/03 - 2/05/1997), au rythme d'une sortie tous les six à huit jours à bord des navires océanographiques de la façade méditerranéenne de GENAVIR (L'Europe) et du CIRMED (Tethys II, Pr G. Petit). Cet échantillonnage serré avait pour but d'étudier des phénomènes biologiques transitoires mais a nécessité d'adapter les techniques de mesures à cette haute fréquence de mesures.

La prospection de la zone d'étude (cf carte ci-après) a été réalisée sur les sites des mouillages des pièges mis en place par le *Laboratoire de Sédimentologie et de Géologie Marine* (Perpignan). A chacune des stations, un profil hydrologique a été réalisé ainsi que divers prélèvements entre 5 et 1165 m de profondeur (productions primaire et bactérienne). Le tableau ci-dessous présente le calendrier des six campagnes pour la partie Pélagos -production primaire- et indique le travail analytique effectué au cours de chaque sortie.

Calendrier des campagnes HFF Pelagos et bilan global d'échantillonnage

	dates	navires	nombre d'échantillons		
			chlorophylle	sels nutritifs	production primaire
HFF ₁	16 mars	L'Europe	17	75	38
HFF ₂	23 mars	L'Europe	72	288	164
HFF ₃	7 avril	L'Europe	72	288	164
HFF ₄	14 avril	L'Europe	72	288	164
HFF ₅	24 avril	Tethys II	72	288	164
HFF ₆	2 mai	Pr G. Petit	72	288	164
		Total	377	1515	858
					2750

Pour toute information complémentaire concernant les données, vous pouvez contacter :

DIAZ Frédéric
Laboratoire d'Océanographie et de Biogéochimie
Campus de Luminy - Case 901
F 13288 MARSEILLE Cedex 09.
Tel : 04 91 82 93 46 ; Fax : 04 91 82 19 91
email : diaz@com.univ-mrs.fr

Remerciements :

Les auteurs de ce recueil tiennent à remercier le programme MATER et le *Laboratoire de Microbiologie Marine* qui a assuré la maîtrise d'oeuvre des campagnes HFF Pelagos ; et en particulier à France VAN WAMBEKE qui en a été le chef de mission. Les données présentées ici ont été acquises grâce au soutien de l'IFREMER et de l'INSU dans le cadre du programme PNOG et avec l'aide de l'équipement CTD rosette du Centre d'Océanologie de Marseille préparé par G. COUSTILLIER.

Acquisition des données hydrologiques et optiques

La sonde CTD utilisée durant les missions HFF est une bathysonde de type SEABIRD 911+ possédant un rythme d'acquisition de 24 données à la seconde et équipée des capteurs suivants :

- Pression, (sensibilité ± 0.041 , précision ± 0.30 m à 10000 m)
- Température (sensibilité ± 0.0004 °C, précision, ± 0.0003 °C, dérive ± 0.004 °C par an),
- Conductivité (sensibilité ± 0.00007 S/m, précision ± 0.00004 S/m, dérive ± 0.0003 S/m),
- Oxygène (Beckman),
- Transmissomètre Seatech (trajet optique 25 cm),
- Fluorescence Seatech (Aquatraka),
- PAR (Photosynthetic Active Radiation) Biospherical (QSP 200L).

Cet ensemble SBE911+ était couplée à un carrousel Seabird de type SBE25 et d'une rosette équipée de 12 bouteilles Niskin de 8 litres. Les profondeurs d'échantillonnage ont été définies en fonction des profils verticaux hydro-biologiques obtenus en temps réel à bord du navire lors de chaque sortie et sont principalement : 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 et 165 m.

Le fluorimètre Seatech sert à visualiser la concentration en chlorophylle à partir de la fluorescence stimulée (à 630 nm) de la chlorophylle *a*.

Le transmissomètre Seatech mesure sur un trajet optique de 25 cm, l'atténuation d'un pinceau lumineux collimaté, de longueur d'onde 660 nm et renseigne sur la turbidité de l'eau.

Les fichiers de données brutes ont été traités selon un processus standard préconisé par Seabird, après vérification des constantes appliquées (alignements et filtres Seasoft, versions 4.205 ; SEA-BIRD ELECTRONICS, 1993) fondé sur les méthodes standards préconisées par l'UNESCO (1991).

Références

SEA-BIRD ELECTRONICS, 1993. CTD acquisition software, Seasoft version 4.035B. Washington, USA : 109p.

UNESCO, 1991. Processing of oceanographic station data. JPOTS editorial panel, United Nations Educational, Vendôme, France : 138p.

Dosage de la chlorophylle par Fluorimétrie

La concentration en pigment chlorophyllien est déterminée selon la méthode fluorimétrique mise au point par YENTSCH & MENZEL (1963) et adaptée par HOLM-HANSEN & RIEMAN (1978) pour l'extraction des pigments à l'aide du méthanol. Le protocole utilisé au cours de la campagne a été décrit par HERBLAND *et al.* (1985) et RAIMBAULT *et al.* (1988).

Les échantillons d'eau de mer de 125 ml, prélevés sur 8 niveaux de profondeur entre 0 et 165 m, sont filtrés directement à bord sur un filtre en fibres de verre (Whatman GF/F, 25 mm). La dépression utilisée est contrôlée à l'aide d'un manomètre et doit toujours rester inférieure à 100 mm Hg. Immédiatement après la filtration, la conservation du filtre s'effectue par congélation.

Au laboratoire, le filtre est placé dans un tube contenant 5 ml de méthanol pur. La teneur en eau résiduelle du filtre étant de 0,20 ml, l'extraction s'effectue dans exactement 5,20 ml de méthanol à 97 %. Le tube est ensuite bouché et placé au réfrigérateur (5 °C) pour une durée d'extraction de 30 minutes. Après ce délai, la fluorescence des échantillons est mesurée à l'aide d'un fluorimètre Turner Designs 10.005R, équipé d'un kit pour la détermination de la chlorophylle *a* (lampe F₄T₄ BL, filtre primaire Corning 5-60, filtre secondaire Corning 2-60).

La technique d'acidification qui permet de déterminer la part des phaeopigments a été utilisée. Mais en présence de chlorophylle *b* dans l'échantillon, cette technique entraîne une sous-estimation des teneurs en chlorophylle *a* et surtout, une forte surestimation des teneurs en phaeopigments (LORENZEN & JEFFREY, 1980). Les teneurs réelles en phaeopigments étant très faibles, toutes les concentrations en chlorophylle *a* seront déterminées selon l'équation ci-dessous qui néglige la présence de ces pigments de dégradation. Le paramètre mesuré est alors appelé chlorophylle totale (Chl_{tot}) en mg m⁻³ :

$$[\text{chl}_{\text{tot}}] = F_0 / K_0 \times V_e / V_f$$

F₀ : fluorescence avant acidification,

K₀ = 0,2165 : coefficient de calibration obtenu avec de la chlorophylle *a* pure (Sigma C5753),

V_e : volume d'extraction (ml),

V_f : volume filtré (ml).

Références

- HERBLAND A., A. LEBOUTEILLER & P. RAIMBAULT, 1985. Size structure of phytoplankton in the Equatorial Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res.*, **32**, 819-836.
- HOLM-HANSEN O. & B. RIEMAN, 1978. Chlorophyll *a* determination : improvements in methodology. *Oikos*, **30**, 438-447.
- LORENZEN C. J. & S. W. JEFFREY, 1980. Determination of chlorophyll in sea water. UNESCO technical papers in marine science, **35**, 20 p.
- RAIMBAULT P., M. RODIER & I. TAUPIER-LETAGE, 1988. Size fraction of phytoplankton in the Ligurian Sea and the Algerian Basin (Mediterranean Sea) : size fraction versus total concentrations. *Mar. Microb. Food Webs*, **3**, 1-7.
- YENTSCH C. S. & D. W. MENZEL, 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.*, **10**, 221-231.

Analyse des sels nutritifs

La concentration en ammonium a été déterminée manuellement selon la méthode de KOROLEFF (1969) sur 4 niveaux de profondeur (5, 20, 40 et 60 m). Les réactifs ont été ajoutés immédiatement après échantillonnage dans des flacons en verre de 100 ml. Le dosage des échantillons est effectué de retour au laboratoire au moyen spectrophotomètre (type Spectronic 501) à 630 nM (cuve de 10 cm).

Des calibrations ont été réalisées régulièrement avant chaque campagne, sur l'eau de mer, à l'aide de solutions standards couvrant la gamme des concentrations rencontrées. Ces courbes d'étalonnage ont permis de calculer le facteur (F) qui donne directement les concentrations en ammonium à partir de la densité optique mesurée. La valeur retenue pour ce facteur au cours de cette mission est de 9,45 ($n=8$, $R^2=0,998$).

Le nitrate, le nitrite et le phosphate ont été analysés respectivement par les méthodes de WOOD *et al.* (1967) et de MURPHY & RILEY (1962), automatisées sur un autoanalyseur Technicon selon le protocole de TREGUER & LE CORRE (1975).

Les échantillons sont prélevés dans des flacons en polyéthylène de 20 ml sur 8 niveaux de profondeur entre 0 et 165 m puis empoisonnés par du chlorure mercurique à $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ d'échantillon, concentration recommandée par KIRKWOOD (1992) pour stopper toute activité biologique. Cette conservation a permis d'attendre le retour au laboratoire où ces échantillons sont ensuite analysés.

Une éventuelle interférence du chlorure mercurique a été vérifiée en comparant les mesures d'échantillons non empoisonnés. La différence n'est pas significative.

La calibration de chaque voie d'analyse est réalisée à l'aide de solutions standards (3 ou 4), couvrant la gamme des concentrations rencontrées pour chaque élément. Le zéro est réglé sur chaque voie en analysant de l'eau déionisée de type MilliQ. Une correction de l'effet de turbidité dû à l'eau de mer (encore appelé "effet de sel") est appliquée aux hauteurs de pics des échantillons pour le calcul des concentrations.

La précision des analyses (écarts types entre répliqués) est de ± 50 nM pour les concentrations de nitrate et de ± 20 nM pour celles du nitrite et du phosphate. Les concentrations dans la suite de ce travail seront données en nmoles l^{-1} (nM).

La pauvreté en sels azotés des eaux de surface de certaines stations n'a pas toujours permis de mesurer la teneur de ces éléments avec les dosages classiques. Lorsque les concentrations en nitrate et nitrite sont inférieures à 100 nM, la procédure développée par RAIMBAULT *et al.* (1990), ayant un seuil de détection de ± 3 nM, est appliquée.

Références

- KIRKWOOD D. S., 1992. Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Mar. Chem.*, **38**, 151-164.
- KOROLEFF F., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *Int. Cons. Explor. Sea*, **9**, 1-6.
- MURPHY J. & J. P. RILEY, 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta*, **27**, 31-36.
- RAIMBAULT P., G. SLAWYK, B. COSTE & J. FRY, 1990. Feasibility of using an automated colorimetric procedure for the determination of seawater nitrate in the 0 to 100 nM range : Examples from field and culture. *Mar. Biol.*, **104**, 347-351.
- TREGUER P. & P. LE CORRE, 1975. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Lab. Oceanogr. Chim. Univ. Bretagne Occidentale.
- WOOD E. P., ARMSTRONG F. A. & F. A. RICHARDS, 1967. Determination of nitrate in seawater by cooper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **47**, 23-31.

Mesures de l'absorption et de la régénération de l'azote à l'aide de l'isotope stable azote-15

La méthode des traceurs isotopiques permet de suivre, par un processus de marquage, différents flux impliqués dans les cycles biogéochimiques. Dans le cas de l'azote, l'isotope stable ^{15}N est utilisé.

Le principe général de marquage consiste à ajouter une quantité connue d'une forme azotée marquée à l'azote-15, dans un échantillon d'eau de mer du milieu à étudier puis à suivre son cheminement dans les différents compartiments. Cette technique permet de suivre à la fois les processus d'absorption, de régénération, et de libération d'azote organique dissous (NOD).

Les prélèvements d'eau de mer (600 ml) sont effectués directement à partir des bouteilles Niskin dans des flacons d'incubation en polycarbonate translucide (Nalgène) à quatre profondeurs (5, 20, 40 et 60 m).

Les composés azotés utilisés pour le marquage sont le nitrate et l'ammonium sous les formes respectives de $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ et de $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$. Ces solutions contiennent 99 % d'azote-15.

La teneur initiale en substrat n'est pas déterminée à bord et les enrichissements, à l'état de traces, sont réalisés en ajoutant 100 nM de traceur nitrate-15 pour les échantillons enrichis en nitrate marqué et 200 nM de traceur ammonium-15 pour les échantillons enrichis en ammonium marqué. D'une manière générale, les échantillons enrichis avec du nitrate-15 le sont à des teneurs voisines de 10 % au minimum. Avec l'ammonium-15, les enrichissements sont plus proches de 50 %.

Immédiatement après l'injection du traceur, les flacons sont placés dans des incubateurs sur le pont du navire. L'incubation choisie est de type *in situ* simulé. La lumière incidente est atténuée par des écrans en nickel permettant d'exposer l'échantillon à un éclairage proche de celui mesuré à la profondeur du prélèvement. Afin d'éviter l'échauffement, les incubateurs sont constamment alimentés par de l'eau de mer de surface. La durée de l'incubation est de 24 heures.

A la fin de l'incubation, les échantillons n'ont pas pu être filtrés directement à bord du bateau. Leur conservation est réalisée par un empoisonnement au chlorure mercurique (HgCl_2 , 20 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Avant l'empoisonnement, une certaine quantité d'échantillon (100 ml dans les flacons enrichis en ammonium-15 et 20 ml dans ceux enrichis en nitrate-15) est prélevée pour le dosage chimique du sel azoté en fin d'incubation. Ce dosage servira au calcul de l'enrichissement final en azote-15.

De retour au laboratoire, chaque échantillon est filtré sur un filtre Whatman GF/F (\varnothing 25 mm, préalablement calciné 24 heures) sous faible dépression (< 100 mm Hg).

Les filtres sont séchés à l'étuve pendant 24 heures avant d'être analysés au spectromètre de masse dans le but de déterminer le taux d'absorption du sel azoté inoculé.

Le filtrat de chaque échantillon n'a pas été systématiquement conservé. Seuls les filtrats de la station centrale (station 5) ainsi que ceux des prélèvements de surface (5 m), pour les flacons enrichis en ammonium-15, ont été récupérés dans des flacons en Pyrex de 500 ml (Schott GL 45).

L'enrichissement en azote dissous (NO_3 , NH_4 et NOD) ne pourra être déterminé qu'après avoir extrait ces derniers composés du filtrat et les avoir concentrés sur un support solide (filtre) approprié à l'analyse isotopique.

La méthodologie de l'extraction est celle mise en oeuvre par SLAWYK & RAIMBAULT (1995) ; elle se divise en deux étapes de diffusion et permet de quantifier l'enrichissement final de l'azote-15 inorganique et organique dissous :

1^{ère} étape : mesure de l'enrichissement final en azote-15 inorganique dissous qui permettra d'estimer la régénération du sel azoté,

2^{nde} étape : mesure de l'enrichissement final en azote-15 organique dissous qui permettra de quantifier le processus de libération de NOD.

Au cours de ce travail, il a été pratiqué une diffusion intermédiaire qui a permis de quantifier le processus de nitrification bactérienne (à partir des échantillons enrichis en ammonium-15).

L'enrichissement en azote-15 des différents filtres (fractions particulaire et dissoute) a été mesuré au moyen d'un spectromètre de masse (Europa Scientific). Cet appareil permet également de mesurer la quantité d'azote total présent sur le filtre.

Le calcul des taux d'absorption d'azote inorganique dissous se fait d'après l'équation proposée par Dugdale & Goering (1967).

$$\rho_{\text{DIN}} = (R_{\text{PON}}/R_{\text{DIN}}) * T * [\text{PON}]$$

où :

R_{PON} : enrichissement final en azote-15 de la fraction particulaire (donnée du spectromètre),

R_{DIN} : enrichissement en azote-15 de la fraction inorganique dissoute,

$[\text{PON}]$: quantité finale d'azote particulaire (en μg , donnée du spectromètre),

T : temps d'incubation (24 heures).

Les taux d'absorption de l'ammonium ont été corrigés de la dilution isotopique en utilisant pour l'enrichissement en DIN (R_{DIN}), la moyenne entre l'enrichissement initial et final. Pour l'absorption de nitrate, aucune dilution isotopique significative n'a été observée, donc l'enrichissement en DIN est pris égal à l'enrichissement initial.

La régénération d'ammonium est calculée en utilisant la formule de LAWS (1984).

L'oxydation de l'ammonium en nitrate est calculée d'après la formule proposée par RAIMBAULT *et al.* (soumis),

$$\rho_{\text{Nit}} = (R'_{\text{DIN}}/R_{\text{NH}_4}) * T * [\text{NO}_3]$$

où :

R'_{DIN} : enrichissement final en nitrate-15,

R_{NH_4} : enrichissement moyen en ammonium-15,

$[\text{NO}_3]$: quantité finale de nitrate (en μg , donnée du spectromètre),

Tous les flux sont exprimés en nM-N d^{-1} .

Références

DUGDALE R. C. & J. J. GOERING, 1967. Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 196-206.

LAWS E., 1984. Isotope dilution models and the mystery of the vanishing ^{15}N . *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 379-386.

SLAWYK G. & P. RAIMBAULT, 1995. Simple procedure for simultaneous recovery of dissolved inorganic and organic nitrogen in ^{15}N -tracer experiments and improving the isotopic mass balance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **124**, 289-299.

RAIMBAULT P., G. SLAWYK, B. BOUDJELLAL, C. COATANOAN, P. CONAN, B. COSTE, N. GARCIA, T. MOUTIN & M. PUJO-PAY. Biomass, new production and export in the Equatorial Pacific at 150°W : evidence for intense nitrogen recycling (submitted).

Mesure de la production primaire

La production primaire a été déterminée par mesure de la fixation de carbone inorganique dissous radioactif (bicarbonate de sodium, $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, Amersham) d'après la méthode de STEEMANN-NIELSEN (1952) révisée par FITZWATER *et al.* (1982) pour aboutir aux méthodes dites "propres".

Les prélèvements (320 ml) sont effectués selon la même procédure que pour les expérimentations azote-15, dans des flacons en polycarbonate préalablement rincés pendant 72 h à l'eau déionisée, puis 72h à l'acide chlorhydrique (HCl, 0.5 N), puis 3 fois à l'eau déionisée (MilliQ) selon la procédure décrite par FITZWATER *et al.* (1982). Ces prélèvements sont faits aux mêmes niveaux de profondeur et incubés dans les mêmes conditions que pour les expérimentations à l'azote-15. A chaque profondeur, deux échantillons sont incubés pour une période de 24 heures, l'un à la lumière, l'autre à l'obscurité (flacons clair et noir). Ponctuellement, des répliqués (3) sont incubés afin de tester la répétitivité de la mesure. L'inoculation est réalisée à l'aide de 0.25 ml de la solution radioactive d'activité spécifique 20 μCi . De manière à vérifier l'absence de fixation immédiate de carbone-14 par des processus abiotiques, des échantillons supplémentaires sont prélevés et filtrés immédiatement après l'inoculation (T_0).

Après inoculation, 0.25 ml de chaque échantillon est prélevé et placé dans un flacon à scintillation contenant 0.25 ml d'éthanolamine de manière à contrôler la quantité totale de radioactivité introduite (dpm_{tot}).

En fin d'incubation, les échantillons sont rapidement filtrés sur des filtres en fibres de verre GF/F (25 mm, porosité $\sim 0.7 \mu\text{m}$) Whatman sous faible dépression ($< 100 \text{ mm Hg}$). Les filtres sont placés dans des flacons à scintillation et sont recouverts par 0.5 ml d'HCl (0.5 N) puis ces filtres sont mis à sécher à l'étuve (45°C) pendant 12 heures.

Avant la procédure de comptage, 10 ml de liquide scintillant (Aquasol-2, Packard) sont ajoutés dans les flacons à scintillation contenant les filtres secs ainsi que 10 ml de liquide scintillant et 1 ml d'eau déionisée dans les fioles contenant la radioactivité introduite, puis les échantillons sont comptés à l'aide d'un compteur à scintillation (Packard Tri-carb 2100TR).

Les mesures sont corrigées de la fixation de carbone à l'obscurité mais les valeurs de ces fixations sont précisées pour chaque profondeur (BANSE, 1994).

Les (PPB) productions primaire brute (PLATT & SATHYENDRANATH, 1993) sont exprimées en $\text{mgC m}^{-3} \text{d}^{-1}$ et sont déduites de l'équation suivante (CONAN, 1996) :

$$\text{PPB} = ((\text{DPM}_{\text{ech}} - \text{DPM}_{\text{obs}}) / \text{DPM}_{\text{tot}}) * A * (V_p / V_f) * 1.05$$

où :

DPM_{ech} : dpm de l'échantillon (flacon clair),

DPM_{obs} : dpm du flacon noir,

DPM_{tot} : dpm totale (quantité introduite),

V_p : volume prélevé dans l'échantillon (0.25 ml),

V_f : volume filtré de l'échantillon (320 ml),

A : concentration des carbonates (25000 mg m^{-3}),

1,05 : facteur de fractionnement isotopique entre ^{12}C et ^{14}C .

Références

BANSE K., 1994. Commentary : an unpleasant note about the ^{14}C method of estimating plankton photosynthesis. US JGOFS Newsletter : 3-6.

CONAN P., 1996. Variabilité et bilan de la production primaire en zone côtière (Méditerranée Nord-occidentale ; entrée du golfe du Lion) en relation avec les systèmes biologique, chimique et hydrodynamique (Courant Nord Méditerranéen). Thèse Doct., Université Aix-Marseille II : 185p.

FITZWATER S. E., G. A. KNAUER, J. M. MARTIN, 1982. Metal contamination and its effect on primary production measurements. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 544-551.

PLATT T. & S. SATHYENDRANATH, 1993. Fundamental issues in measurement of primary production. *ICES Mar. Sci. Symp.*, **197**, 3-8.

STEEMANN-NIELSEN E., 1952. The use of radioactive (^{14}C) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Int. Explor. Mer*, **18**, 117-140.

HFF PELAGOS 1
15-18 mars 1997

(5 Stations, campagne incomplète en raison de mauvaises conditions météorologiques)

HFF PELAGOS 2
22-26 mars 1997
(9 Stations)

HFF PELAGOS 3
3-8 avril 1997
(9 Stations)

HFF PELAGOS 4
13-17 avril 1997
(9 Stations)

HFF PELAGOS 5
21-24 avril 1997
(9 Stations)

HFF PELAGOS 6
1-4 mai 1997
(9 Stations)