

# Protocoles utilisés au cours de la campagne BULA Mars 2003

## 1. Données CTD

La sonde CTD SBE 19 équipée de capteurs additionnels permet de caractériser **température** (°C), **salinité** (‰), **turbidité** (Normalized Turbidity Unit ou NTU), **fluorescence *in vivo*** (Unités Arbitraires ou UA) et rayonnement photosynthétiquement actif (**PAR**) le long de la colonne d'eau.

**Fichier : Synthèse CTD Bula 3 Mars 2002 SISMER.XLS Feuille : Tout**

Les valeurs aberrantes ont été éliminées, puis les valeurs ont été discrétisées (moyennes, sigma et nombre de mesures tous les 50 cm). Les moyennes et SE (Standard Error = Ecart-type/ $n^{1/2}$ ) par station ont ensuite été calculées sur ces valeurs discrètes afin d'éliminer les biais dus à la vitesse de descente non constante. Noter que nous n'utilisons pas la calibration d'usine pour la fluorescence *in vivo* (d'où les unités arbitraires). Les valeurs de chlorophylle *a* peuvent être comparées *in situ* avec les valeurs de Chlorophylle *a* déterminées sur membranes GF/F.

**Fichier : Synthèse CTD Bula 3 Mars 2002 SISMER.XLS Feuille : Discrets**

## 2. Autres données

**Fichier : Synthèse Bula 3 SISMER.XLS**

Colonne **A** : **Numéro** des stations

Colonne **B** : **Profondeur** (m)

Colonne **C** : **date et heure** de prélèvement

Colonne **D & E** : **Longitude Est et Latitude Sud** en degré et minute (et centièmes de minutes). Système WGS 84

Colonne **F & G** : Moyenne et erreur standard de la **température** (°C) sur la colonne d'eau calculées sur les données discrétisées tous les 0,50m (voir plus haut)

Colonne **H & I** : Moyenne et erreur standard de la **turbidité** (NTU) sur la colonne d'eau calculées sur les données discrétisées tous les 0,50m (voir plus haut)

Colonne **J & K** : Moyenne et erreur standard de la **fluorescence *in vivo*** (unités arbitraires) sur la colonne d'eau calculées sur les données discrétisées tous les 0,50m (voir plus haut)

Colonne **L & M** : Moyenne et erreur standard de la **salinité** (PSU) sur la colonne d'eau calculées sur les données discrétisées tous les 0,50m (voir plus haut)

Colonne **N & O** : **Atténuation lumineuse**. Pente et erreur standard du logPAR vs. profondeur (m) sur la colonne d'eau

Colonne **P** : **nitrate+nitrite** (NO<sub>3</sub>, μM)

Colonne **Q** : **ammonium** (NH<sub>4</sub>, μM)

Colonne **R** : **azote inorganique dissous** (DIN, μM) = NO<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub>

Colonne **S** : **Phosphore inorganique dissous** (PO<sub>4</sub>, μM)

Colonne **T** : **Silicates** (Si, μM)

Colonne **U** : **Azote organique dissous** (NOD, μM)

Colonne **V** : **Phosphore organique dissous (POD)** (POD, μM)

La concentration en **ammonium** (NH<sub>4</sub>) a été déterminée par fluorimétrie selon de la méthode *o*-phtaldialdéhyde (Holmes *et al.* 1999). Les échantillons de Bula 3 ont été conservés jusqu'au retour à Nouméa où ils ont été dosés.

Le conditionnement des échantillons non filtrés à -20°C était effectué pour les mesures d'éléments nutritifs minéraux (**NO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub>**, **PO<sub>4</sub>**, **Si**) et organiques (**NOD**, **POD**, actuellement exprimés sans en avoir retiré les contributions inorganiques). Les nitrates étaient réduits en nitrites suivant (Wood *et al.*, 1967), la somme des concentrations en nitrates et nitrites est déterminée d'après Raimbault *et al.*, (1990) à l'aide d'un Autoanalyzer Bran+Luebbe III.

Les **silicates** dissous et colloïdaux étaient mesurés selon la méthode de Koroleff (1976) et analysés par colorimétrie en utilisant un Autoanalyzer Bran+Luebbe III (Mullin & Riley, 1955).

La matière organique dissoute (**NOD**, **POD**) est dégradée en substances minérales puis les composés inorganiques sont mesurés par colorimétrie. La méthode de dégradation utilisée est celle par oxydation par voie humide (Raimbault *et al.*, 1999).

Colonne **W** : **Carbone organique particulaire au CHN** (COP, μM)

Colonne **X** : **Azote organique particulaire au CHN** (NOP, μM)

Azote et carbone organiques particuliers (**NOP** et **COP**) sont déterminés sur le matériel retenu sur membrane GF/F. 500 ml sont filtrés sur une membrane GF/F préalablement calcinée à 450°C pendant 2 heures. Le filtre est plié en deux puis déposé sur une feuille de papier d'aluminium épaisse (préalablement calcinée à 450°C pendant 2 h, 150 X 200 mm). Les filtres sont placés dans une enceinte fermée, sous légère dépression, autour d'une coupelle de laboratoire contenant une vingtaine de milli litre d'acide chlorhydrique fumant pendant 2 heures pour éliminer le C inorganique. L'ensemble est ensuite placé dans une étuve à 50°C jusqu'à l'analyse. C et N sont dosés avec un analyseur CHN Perkin Elmer 2400.

Colonne **Y** : **Azote organique particulaire par oxydation humide** (NOP, μM)

Colonne **Z** : **Phosphore organique particulaire par oxydation humide** (POP, μM)

Azote et phosphore organiques particuliers (**NOP** et **POP**) sont déterminés sur le matériel retenu sur membrane GF/F. Un litre est filtré sur une membrane GF/F préalablement autoclavée. Les échantillons sont stockés à -20°C jusqu'à l'analyse. La matière organique particulaire est alors dégradée en substances minérales puis les composés inorganiques sont mesurés par colorimétrie. La méthode de dégradation utilisée est celle par oxydation par voie humide (Raimbault *et al.*, 1999).

Colonnes **AA & AB** : **Production bactérienne de biomasse** (TdR, pM/h) moyenne et écart

La **production bactérienne de biomasse** est estimée par l'incorporation de [*methyl*-<sup>3</sup>H] thymidine (TdR) dans l'ADN (Fuhrman & Azam, 1982). Les échantillons de 5 à 10 ml ont été incubés à l'obscurité avec 15 nM de [*methyl*-<sup>3</sup>H] thymidine (40-60 Ci/mmol, Amersham) pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante. Ils sont ensuite formolés (2% final) et filtrés sur Nuclepore 25 mm, de porosité 0,2 μm, précipités au TCA 15 min, rincés et mis en

fiolle à scintillation puis congelés jusqu'au retour à Nouméa où ils reçoivent 4 ml de scintillant et sont comptés en scintillation liquide. Les échantillons sont tous incubés en duplicata plus un contrôle (formolé). La production bactérienne est exprimée en pM de TdR incorporée par litre et par heure. La moyenne et l'écart entre répliqués (contrôles retirés) sont reportés.

Colonne **AC** : Chlorophylle a totale retenue sur GF/F ( $\mu\text{g Chl.a l}^{-1}$ )

Colonne **AD** : Phaeopigments totaux retenus sur GF/F ( $\mu\text{g d'équivalent Chl.a l}^{-1}$ )

Colonne **AE** : Chlorophylle a retenue sur membrane Nuclepore de porosité 2  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{g Chl.a l}^{-1}$ )

Colonne **AF** : Phaeopigments retenus sur membrane Nuclepore de porosité 2  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{g d'équivalent Chl.a l}^{-1}$ )

Colonne **AG** : Chlorophylle a retenue sur membrane Nuclepore de porosité 10  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{g Chl.a l}^{-1}$ )

Colonne **AH** : Phaeopigments retenus sur membrane Nuclepore de porosité 10  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{g d'équivalent Chl.a l}^{-1}$ )

La biomasse phytoplanctonique (concentration en chlorophylle *a*) est déterminée par fluorimétrie en suivant la méthode de (Holm-Hansen & Booth, 1966) par extraction au méthanol de la fraction retenue sur membranes Whatman GF/F (porosité nominale 0,7  $\mu\text{m}$ ). Les fractions  $>2 \mu\text{m}$  et  $> 10 \mu\text{m}$  ont été déterminées par filtration sur filtres Nuclepore de 25 mm de diamètre et de porosité 2 et 10  $\mu\text{m}$ .

Colonne **AI** : Production primaire totale retenue sur GF/F ( $\mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$ )

Colonne **AJ** : Production primaire retenue sur membrane Nuclepore de porosité 2  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$ )

Colonne **AK** : Production primaire retenue sur membrane Nuclepore de porosité 10  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{gC l}^{-1}\text{h}^{-1}$ )

Les productions phytoplanctoniques étaient estimées par l'incorporation de  $^{14}\text{C}$ -bicarbonate (Steeman-Nielsen, 1952) sous éclairage constant ( $257\pm 37 \mu\text{E}$ , pour 2 tubes fluorescents True-Lite mimant la lumière solaire). Les fractions  $>2 \mu\text{m}$  et  $> 10 \mu\text{m}$  étaient déterminées par filtration de l'eau en fin d'incubation sur filtres Nuclepore de porosité 2 et 10  $\mu\text{m}$ . Après incubation, les échantillons étaient filtrés sous lumière atténuée, rincés par de l'eau de mer filtrée et stockés en fioles à scintillation à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'au retour à Nouméa. Ils étaient alors décarbonatés par 0,5 ml d'HCl 0,5 N pendant une nuit sous hotte puis recevaient 4 ml de scintillant et étaient passés au compteur à scintillation. Des contrôles d'incorporation à l'obscurité ont été systématiquement effectués et retirés des valeurs exprimées. Au moins une mesure en duplicata de la quantité introduite était effectuée chaque demi-journée. L'alcalinité ( $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ ) a été systématiquement déterminée.

Colonne **AL** : Alcalinité (carbonates :  $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ ,  $\mu\text{gC l}^{-1}$ )

Colonne **AM** : Abondance de *Prochlorococcus* ( $10^3 \text{ ml}^{-1}$ )

Colonne **AN** : Abondance de *Synechococcus* ( $10^3 \text{ ml}^{-1}$ )

Colonne **AO** : Abondance des picoeucaryotes autotrophes ( $10^3 \text{ ml}^{-1}$ )

Les énumérations et identifications du picophytoplancton ont été effectués sur des prélèvements immédiatement fixés (glutaraldéhyde, 2% concentration finale) et après 10 minutes, cryogénisés dans l'azote liquide, puis expédiés dans l'azote liquide à l'IRD-Université de la Réunion (J. Blanchot, IRD UR 99). Les dénombrements ont été effectués en

cytométrie de flux (FacScan). *Synechococcus*, *Prochlorococcus* et picoplancton eucaryote ont été discriminés par diffraction aux petits angles et fluorescence.

Colonne AP : **Abondance des bactéries hétérotrophes** ( $10^6 \text{ ml}^{-1}$ )

Les **effectifs bactériens hétérotrophes** ont été déterminés en cytométrie de flux par J. Blanchot (IRD La Réunion) après coloration au SYBR green (Marie *et al.*, 1999).

Colonne AQ : **Nickel dissous** ( $\mu\text{M}$ )

Colonne AR : **Cuivre dissous** ( $\mu\text{M}$ )

Les échantillons sont collectés au moyen de bouteilles Go-Flo (General Oceanics Inc, USA) en sub-surface et immédiatement filtrés sur membranes Nuclepore de porosité  $0,4 \mu\text{m}$ . Les métaux trace sont alors pré-concentrés sur une colonne Sep-Pak contenant de la 8-hydroxyquinoline immobilisée (Waite & Szymczak 1993, Wen *et al.* 1999). Les métaux dissous retenus sur les colonnes sont alors élués avec 5 ml d'acide nitrique 0,7 M pour atteindre un facteur de préconcentration de 100. Une importante fraction de la matrice salée est éliminée pendant cette préconcentration. Les échantillons sont alors dosés au four graphite par spectrométrie d'absorption (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, GFAAS) ou en ICP-MS à haute résolution (*High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, HR ICP-MS).

### 3. Références citées

- Fuhrman JA, F Azam (1982) Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. *Marine Biology* 66(2): 109-120
- Holmes R.M., Aminot A., Kérouel R., Bethanie A., Hooher A., Peterson B.J. (1999) A simple and precise method for measuring ammonium in marine and freshwater ecosystems. *Can. J. Aquat. Sci.* 56: 1801-1808.
- Holms-Hansen O., Lorenzen C.J., Holmes R.W., Strickland J.D.H. (1965) Fluorimetric determination of chlorophyll. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.* 30: 3-15.
- Koroleff F. (1976) Determination of silicon. In *Methods of sea water analysis*, K.Grasshoff (Eds.), Verlag Chemie, Weinheim, RFA, 149-158.
- Marie D, CPD Brussaard, R Thyraug, G Bratbak, D Vaultot (1999) Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology* 65(1): 45-52.
- Mullin J.B., Riley J.P. (1955) The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Anal. Chil. Acta.* 12: 162-170.
- Raimbault P, F Diaz, W Pouvesle, B Boudjellal (1999) Simultaneous determination of particulate organic carbon, nitrogen and phosphorus collected on filters, using a semi-automatic wet-oxidation method. *Marine Ecology-Progress Series* 180: 289-295.
- Raimbault P., Slawyk G., Coste B., Fry J. (1990) Feasibility of measuring an automated colorimetric procedure for the determination of seawater nitrate in the 0 to 100nM range : examples from field and culture. *Mar. Biol.* 104: 347-351.
- Steeman-Nielsen (1952) The use of radioactive carbon ( $C^{14}$ ) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 18: 117-140
- Waite D.T & Szymczak R (1993) Particulate iron formation dynamics in surface waters of the Eastern Caribbean, *Journal of Geophysical Research* 98(C2): 2371-2383.
- Wen B, Shan X & Xu S (1999) Preconcentration of ultratrace rare earth elements in seawater with 8-hydroxyquinoline immobilized polyacrylonitrile hollow fibre membrane for determination by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analyst* 124: 621-626.
- Wood E.D., Armstrong F.A., Richards F.A. (1967) Determination of nitrate in sea water by cadmium copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 47: 23-31

**Référence Simer FI352002100040**

**Campagne : BULA 2**

**Navire : ALIS**

**Du : 12/03/2002**

**Port Départ : Suva**

**Au : 19/03/2002**

**Port Arrivée: Suva**

**Mer/Océan :**

PACIFIQUE SW (LIMITE 140 W) - ()

**Limites :**

<b>Nord : S 18 00</b>	<b>Sud : S 18 18</b>	<b>Ouest : E 178 18</b>	<b>Est : E 178 36</b>
-----------------------	----------------------	-------------------------	-----------------------

**Objectif :**

Caractérisation du milieu non vivant et premières estimations des biomasses et activités planctoniques dans le lagon entourant la ville de Suva en période de fin de saison chaude. Premières estimations des activités benthiques. Distribution des caractéristiques physico-chimiques des eaux du lagon. Distribution de la biomasse bactérienne, de la production bactérienne, de la production primaire sous clairement constant (300 microE) et des chloropigments en 3 classes de taille (totale, >2, >10 microm), des abondances picoplanctoniques (cytométrie en flux), microphytoplanctoniques (microscopie inversée), de protistes (ciliés, microscopie inversée) et de la diversité bactérienne (T-RFLP). Distribution des concentrations en métaux dissous. Distribution des radionucléides (210Pb/210Po, 234Th/238U) dans le matériel particulaire, le zooplancton et les pelotes fécales du zooplancton, sur une radiale cote - large dans le but de préciser l'importance respective des voies géochimiques et biologiques de transfert particulaire.

**Organisme Maître d'Ouvrage:**

- IRD - CENTRE DE NOUMEA  
BP A5  
  
98848 NOUMEA CEDEX  
tél : (+687) 26 10 00 fax : (+687) 26 43 26

**Organisme Maître d'Oeuvre: IRD**

**Chef(s) de mission :**

- TORRETON Jean-Pascal (email : torreton@noumea.ird.nc)

**Organisme(s) Participant(s)**

IRD (Centre de Noumea), ANSTO (Australie)

**Discipline(s) :**

- BIOLOGIE MARINE
- CHIMIE OCEANIQUE
- ENVIRONNEMENT
- OCEANOGRAPHIE PHYSIQUE

Code	Libellé	Nb.	Responsable	Etat analyses
B01	Production primaire Mesures à 300 microE en 3 classes de taille totale, >2 et >10 microm	40	JACQUET Severine	Prêt
B02	Pigments phytoplanctoniques 40 st. en 3 classes de taille (totale, >2, >10microm), 14 st. Chl.a total	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
B06	Matiere organique dissoute NOD, POD	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
B07	Bacteries et microorg. pelagiques Abond. & prod bacter. (40 st). Diversite bacterienne par T-RFLP	40	JACQUET Severine	Production prête Abondance prête (cytométrie) Diversité non encore analysée
B08	Phytoplancton Picoplanct/cytometrie en flux, nano/micro-phytopl. par microscopie inv.	40	TORRETON Jean-Pascal	Production prête Abondance prête (cytométrie)
B09	Zooplancton Pour analyse isotopique du zoo et des pelotes fecales	2	JEFFREE Ross	En attente
B16	Bacteries et microorg. benthiques Respiration benthique, diversite par T-RFLP	9	PRINGAULT Olivier	En attente
B71	Matiere organique particulaire C,N,P	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
G04	Prelevements carottier fond meuble	13	PRINGAULT Olivier	En attente
H09	Bouteilles	54	TORRETON Jean-Pascal	
H10	Stations bathysonde Profils CTD	54	PANCHE Jean- Yves	Prêt
H17	Mesures optiques Profils PAR, fluorescence in vivo, nephelometrie	54	TORRETON Jean-Pascal	Prêt
H22	Phosphates	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
H23	Phosphore total	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
H24	Nitrates	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
H26	Silicates	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
H27	Alcalinite	40	TORRETON Jean-Pascal	Prêt
H32	Isotopes 210Pb/210Po, 234Th/238U	3	SZYMCZAK Ron	En attente
H75	Azote total	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
H76	Ammonium	54	CHIFFLET Sandrine	Prêt
P02	Metaux lourds Dissous et particulaires	21	MORETON Benjamin	Prêt

### Travaux effectués :

- -Profils CTD (SBE19) équipée de capteurs PAR, turbidité, et fluorescence in situ.
- -Prélèvements d'eau pour analyse des nutriments dissous.
- -Prélèvements d'eau et filtrations pour analyse du matériel particulaire.
- -Prélèvement d'eau pour analyse des métaux dissous (retention sur colonne).
- -Prélèvement d'eau et filtration d'eau pour analyses isotopiques ( $^{210}\text{Pb}/^{210}\text{Po}$ ,  $^{234}\text{Th}/^{238}\text{U}$ ).
- -Filtrations séquentielles (200, 20, 2 et 0.2 microm) in situ pour analyses isotopiques ( $^{210}\text{Pb}/^{210}\text{Po}$ ,  $^{234}\text{Th}/^{238}\text{U}$ ).
- -Prélèvements de zooplancton pour analyses isotopiques ( $^{210}\text{Pb}/^{210}\text{Po}$ ,  $^{234}\text{Th}/^{238}\text{U}$ ) des organismes et des pelotes fécales.
- -Prélèvements d'eau pour analyse des communautés planctoniques : abondances (bactéries, picoplancton autotrophe, nano- et microphytoplancton, protistes) et diversité (bactéries).
- -Prélèvements d'eau et analyse des productions bactérienne et primaire (totale,  $>2$ ,  $>10\ \mu\text{m}$ , sous clairement constant de 300 microE) planctoniques.
- -Prélèvements de sédiments et analyses de respiration et production primaire benthique.