

Programme d'Impulsion en Sciences Marines
Services du Premier Ministre
Programmation de la Politique Scientifique
1992-1996
contrat n° MS/12/090

Annexe 1

Méthodologie.

J.H. Hecq, A. Goffart, C. Frangoulis et F. Touratier.

Université de Liège, Unité d'Ecohydrodynamique

Programme d'Impulsion en Sciences Marines
Services du Premier Ministre
Programmation de la Politique Scientifique
1992-1996
contrat n° MS/12/090

Annexe 1

Methodologie.

J.H. Hecq, A. Goffart, C. Frangoulis et F. Touratier.

Université de Liège, Unité d'Ecohydrodynamique

A) Récolte des pelotes fécales

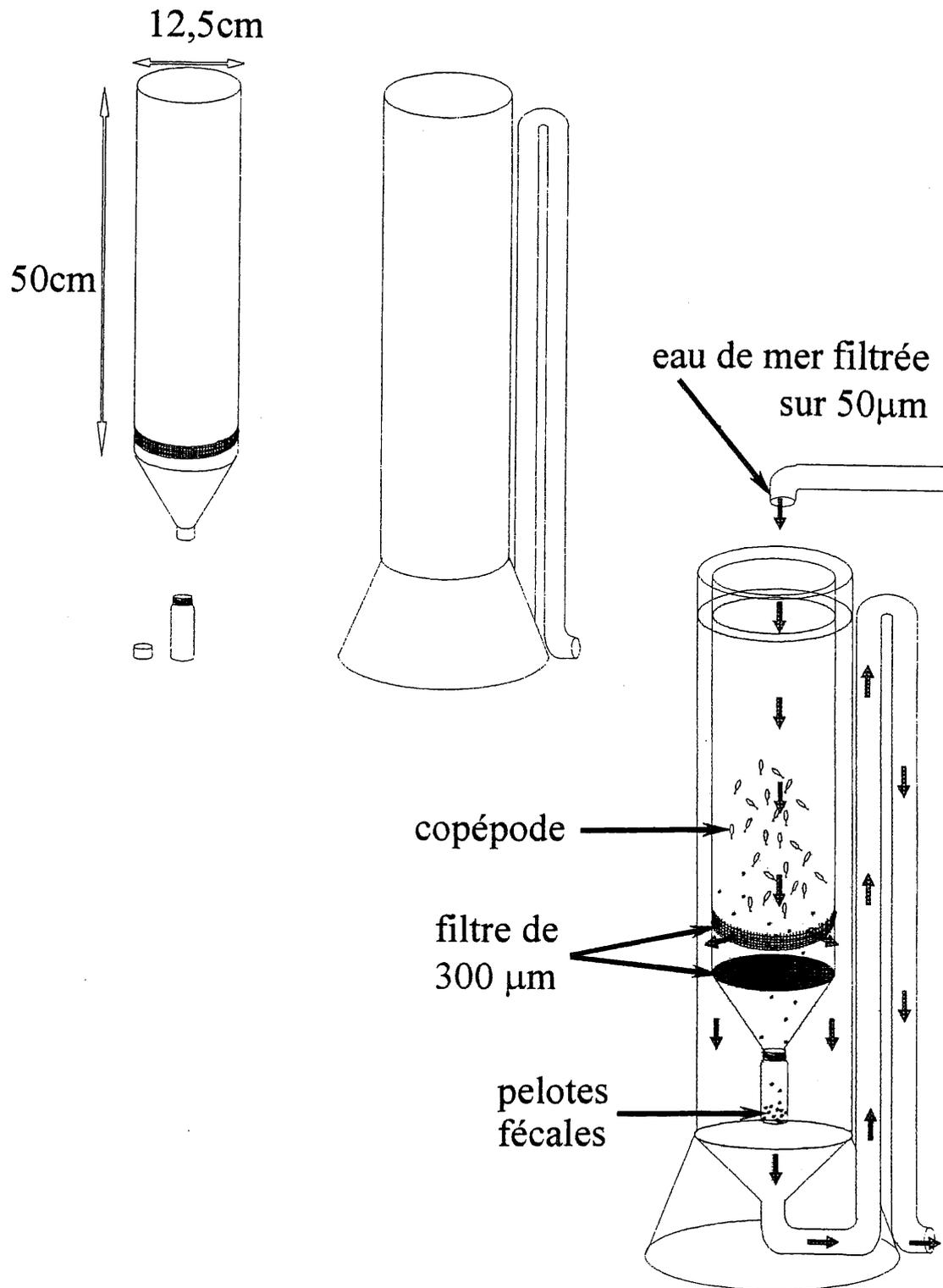
Dans la plupart des prélèvements effectués, la fraction mésozooplanctonique était essentiellement représentée par des copépodes. Toutefois, une "purification" préalable de cette fraction était souvent nécessaire afin d'éviter le colmatage du collecteur de pelotes, surtout pour les prélèvements effectués en période d'efflorescence printanière. En fonction des classes de tailles représentées dans l'échantillon, des toiles de filtration de maillages différents ont été utilisées pour ne retenir que les copépodes. Le plus souvent, l'échantillon est passé sur une toile de largeur de maille 1 mm placée au-dessus d'une toile de largeur de maille 300 μ m. Les copépodes retenus par le deuxième filtre sont ensuite remis en suspension dans de l'eau de mer filtrée sur 50 μ m et le tout est versé délicatement dans le collecteur de pelotes. Le remplissage du collecteur a lieu vingt à trente minutes après la récolte des copépodes.

Description du collecteur de pelotes fécales (voir figure):

Ce collecteur a été réalisé sur base des modèles décrits dans la littérature (La Rosa 1976; Small *et al.*, 1979). Il s'agit de deux cylindres creux d'une hauteur de 70cm emboîtés l'un dans l'autre dans lesquels une circulation d'eau de mer filtrée sur 50 μ m (prélevée à une profondeur de trois mètres) est assurée pour le maintien de la température *in situ*. Le cylindre intérieur est ouvert aux deux extrémités et sa partie inférieure est munie d'un maillage de 300 μ m et d'un entonnoir au bout duquel est fixée une fiole. Sur la paroi du cylindre, des trous recouverts d'une toile de maillage de 300 μ m permettent l'écoulement d'eau. Les copépodes contenus dans le cylindre intérieur sont retenus par la toile de 300 μ m qui ne laisse passer que les pelotes. Ces dernières sont ainsi rapidement soustraites à l'action dégradatrice des copépodes et sédimentent jusque dans la fiole.

Après quatre à cinq heures, l'appareil est vidé, les copépodes sont récupérés puis congelés et la fiole est détachée du cylindre.

Les pelotes ainsi recueillies sont fixées au formaldéhyde 4% pour les expériences de sédimentation (cfr. annexe 2).



Collecteur de pelotes fécales de copépodes. En haut à gauche sont représentées les composantes du collecteur et en bas à droite le collecteur assemblé.

B) Mesure des vitesses de sédimentation

Afin de mesurer la vitesse de sédimentation des pelotes récoltées, une colonne de sédimentation a été réalisée sur base des modèles décrits dans la littérature (Small *et al.*, 1979; Turner, 1977). Il s'agit d'une colonne en verre, longue de 85cm ayant un diamètre intérieur de 6,5cm (voir figure). Le diamètre est choisi de manière à obtenir un compromis entre une colonne suffisamment large pour diminuer les effets de paroi, et suffisamment étroite à son extrémité pour pouvoir faire converger et récupérer le maximum de pelotes.

L'extrémité inférieure est effilée et munie d'un robinet en Téflon sans lubrifiant pour éviter l'adhérence des pelotes fécales. La largeur de la colonne d'eau (considérée comme entièrement cylindrique) est calculée à partir de sa hauteur et de son volume. Une valeur "virtuelle" de 6.36cm est obtenue.

Pour mieux visualiser le parcours des pelotes dans la colonne d'eau, une lampe à loupe circulaire est placée sur la partie supérieure du dispositif.

De l'eau de mer de salinité connue, filtrée sur un filtre GF/A (Whatman, 1,2 µm de diamètre de pore), est versée dans la colonne et un thermomètre placé contre la paroi indique sa température pour chaque expérience.

Protocole

Il a été réalisé sur base des protocoles décrits dans la littérature (Small *et al.*, 1979; Smayda, 1969; Turner, 1977).

Après avoir laissé la colonne (munie d'un bouchon sur sa partie supérieure) au repos pendant au moins une heure, pour minimiser les micro turbulences :

- la température de la colonne d'eau est notée (T1).
- un filtre de 300µm est placé sous la surface de l'eau. Ce filtre empêche le passage d'agrégats de pelotes dans la colonne.
- les pelotes sont injectées lentement, mais en une fois, au dessus du filtre, à l'aide d'une pipette Pasteur.
- le filtre est retiré dès que les pelotes l'ont traversé.
- le chronomètre est actionné (t_0) après que les pelotes soient descendues de 5cm dans la colonne d'eau pour diminuer l'artefact d'accélération dû à la propulsion par la pipette.
- le robinet est ouvert dès que les premières pelotes arrivent dans le bas de la colonne et le temps au moment de l'ouverture est noté (t_1).
- un premier échantillon d'un volume de 1,5 ml est prélevé dans un tube de type Eppendorf puis le robinet est refermé.

Les prélèvements sont effectués à intervalles de temps réguliers toutes les dix à trente secondes, environ, jusqu'à ce que toutes les pelotes aient sédimenté et le temps à la dernière ouverture du robinet est noté (t_n).

- une fois le dernier prélèvement effectué, la température de la colonne d'eau est notée (T2).
- le contenu de chaque tube est observé au microscope photonique à loupe binoculaire. La longueur et la largeur des pelotes présentes sont mesurées et leur volume est calculé en les supposant de forme cylindrique. Les fragments de pelotes ne sont pas mesurés. Pour chaque prélèvement, la moyenne et la variance des volumes sont calculées.

Les vitesses de sédimentation sont calculées de la manière suivante:

$$W_{\text{sedk}} = (H - (k-1)*d)/t_k$$

où $t_k = t_1 + (k-1)*((t_n - t_1)/(n-1))$

avec

H : hauteur de la colonne d'eau (70cm).

k : prélèvement dont la vitesse est mesurée (k=1,...,n; n étant le nombre total de prélèvements)

d : constante correspondant à la hauteur de l'abaissement de la colonne d'eau après enlèvement de 1,5 ml.

t₁, t_k, t_n, temps de prise du premier, du k^{ième} et du n^{ième} prélèvement

Calcul de la vitesse théorique de sédimentation

Pour calculer la vitesse de sédimentation, une adaptation de l'équation de Stokes, applicable à la sédimentation dans un cylindre de pelotes fécales cylindriques produites par des copépodes ou des euphausiacés, a été utilisée (Komar *et al.*, 1981).

$$W_{the} = (0,0790/\mu) * (\rho_s - \rho) * g * L^2 * (L/D)^{-1.664}$$

avec

W_{the} : la vitesse de sédimentation théorique

μ : viscosité de l'eau (en g*(cm*sec)⁻¹)

ρ_s : la densité de la particule cylindrique (pelote). Komar a estimé de manière indirecte la densité moyenne des pelotes fécales de copépodes à 1,28 g*cm⁻³. Cette valeur coïncide assez bien avec la valeur moyenne mesurée par lui-même et d'autres auteurs (Komar *et al.*, 1981; Small *et al.*, 1979; Lampitt *et al.*, 1990; Wiebe *et al.*, 1976).

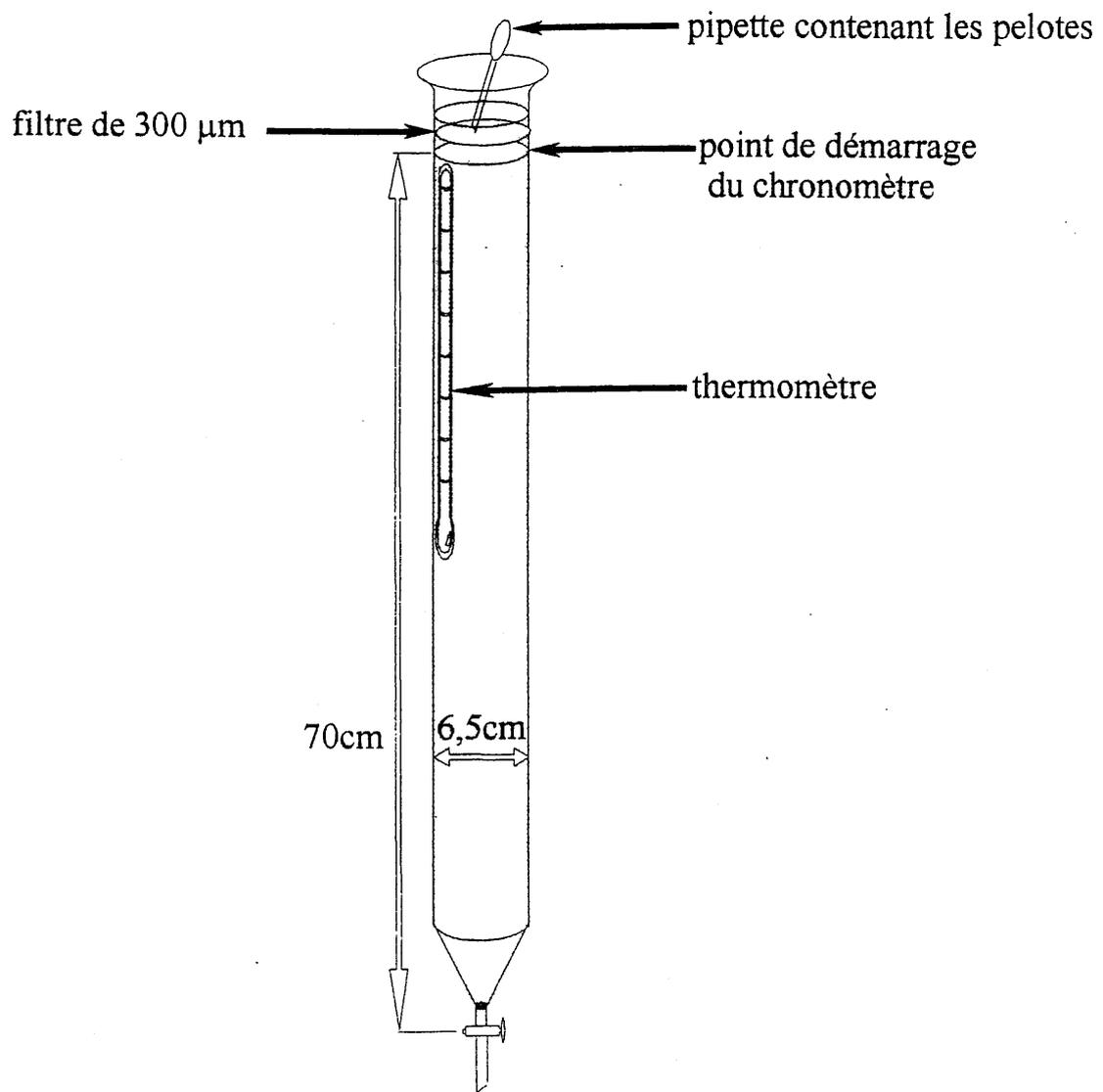
ρ : la densité du milieu (g*cm⁻³) (eau de mer).

g : accélération gravitationnelle (g = 9,806m/s² à 45° de latitude et au niveau de la mer).

L : longueur de la particule cylindrique (pelote).

D : largeur de la particule cylindrique.

Cette équation est applicable quant $\rho * W_{the} * L / \mu < 2$, ce qui est le cas pour les pelotes étudiées (Komar *et al.*, 1981).



Colonne de sédimentation.

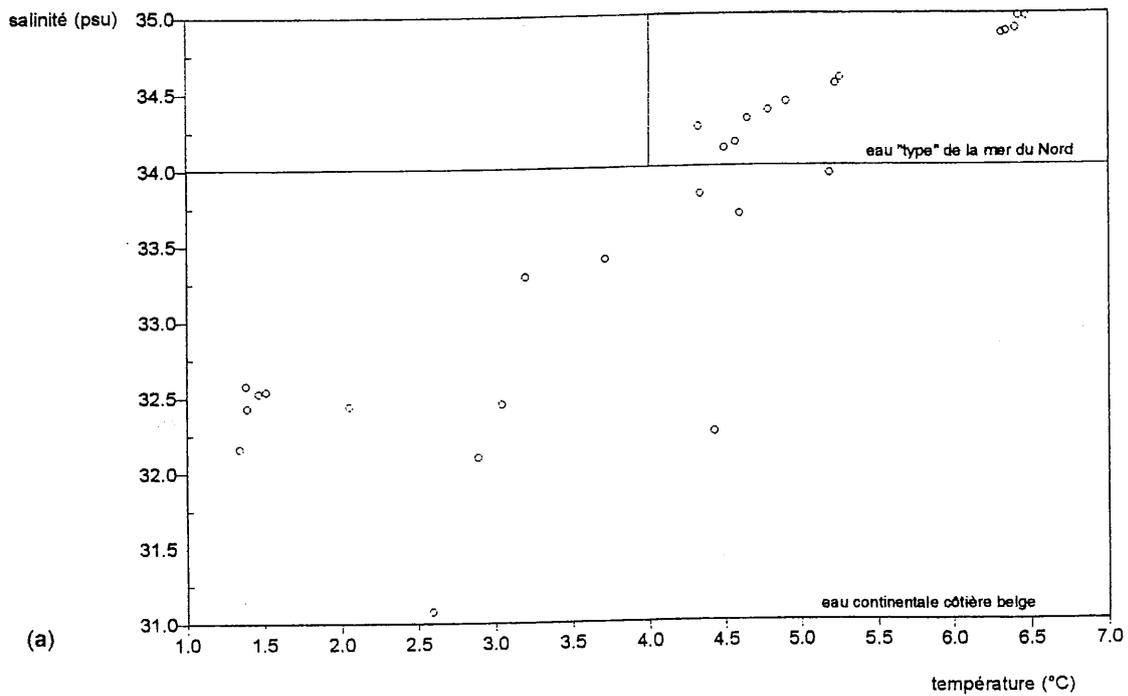
C) Analyse statistique des résultats

Les informations acquises durant les campagnes d'échantillonnage en mer sont stockées sous forme de fichiers de données de base (un exemple est montré ci-après). Pour chaque campagne, des diagrammes T-S ont été réalisés (voir figure). Les données de chaque campagne sont ensuite traitées séparément suivant leur appartenance à une masse d'eau particulière. Cette séparation des données est effectuée dans le but d'identifier des aires à comportement significativement différent, vis-à-vis de la production et la sédimentation de matière fécale d'origine phytoplanctonique.

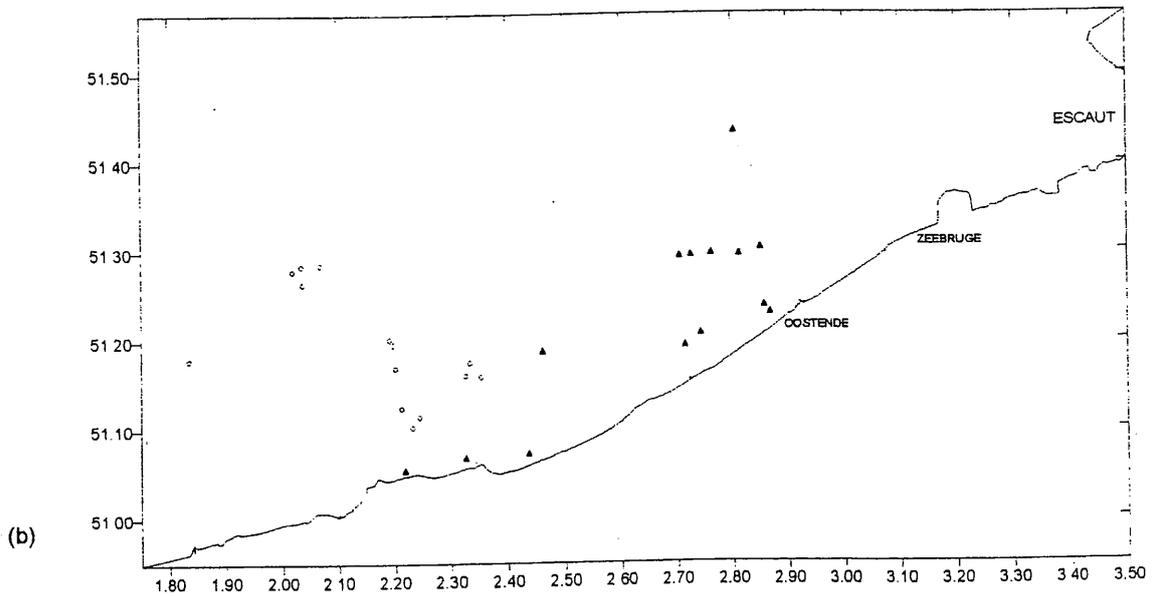
La déviation de la distribution normale des variables dépendantes (vitesse de sédimentation et production de pelotes fécales) a été étudiée à l'aide du test de comparaison de Kolmogorov-Smirnov (D), choisi pour sa puissance. Les variables ont été transformées de façon logarithmique à chaque fois qu'un meilleur accord avec la distribution normale était possible.

Des régressions linéaires simples ont été calculées afin de décrire la relation entre la variable dépendante "vitesse de sédimentation", et la variable explicative "volume des pelotes". Pour la variable dépendante "production des pelotes fécales", la description de la forme de relation avec les variables explicatives (température, salinité, biomasse, % de chaque espèce) a été effectuée par une régression multiple. Une sélection de variables explicatives écontribution significative a été réalisée grâce à une sélection "pas à pas" (Stepwise). La contribution de l'ensemble des variables explicatives à la variation totale de la variable dépendante est exprimée par le coefficient de corrélation multiple (R^2). Dans certains cas, quand l'examen des coefficients de régression mènent à un modèle mal interprétable, la sélection "pas à pas" est répétée après enlèvement d'une variable du modèle. Cette opération permet de donner une forme plus explicative au modèle de régression. Cette procédure est réalisée après examen des corrélations entre chaque paire de variables et uniquement quand la diminution du coefficient de corrélation multiple est faible.

La comparaison des moyennes a été réalisée à l'aide du test-t de Student ($\alpha=0,01$).



(a)



(b)

Sur base d'un diagramme T-S (a) les stations de la campagne (19/02/96 au 29/02/96) ont été séparés en deux groupes (b). Les cercles représentent les stations appartenant à la masse d'eau "type" de la mer du Nord (NSQSR, 1993), les triangles représentent les stations appartenant à la masse d'eau continentale côtière belge.

Stations	Day	time (gmt)	Northing	Easting	Depth (m)	T (°C)	S (pdu)	Fluo (mug/l)	F nbr/h ind	biomasse (cop, (mg/m ³))	% en espèce								
											Temora	Centropages	Acartia	Pseudocalanus	Calanus	Nauplii			
1	18/03	15,05	51,48	2,45	33,80	6,03	34,92	15,90											
2	18/03	17,40	51,58	2,77	29,80	4,89	34,43	15,10	1,53	181,81	76,27	8,86	8,86	6,01	0,00	0,00			
3	18/03	20,97	51,85	2,87	41,10	5,11	34,72	15,60	1,43	311,16	39,10	2,56	6,41	51,28	0,64	0,00			
4	19/03	6,00	51,47	3,06	20,60	2,83	32,03	18,80											
5	19/03	6,50	51,44	3,14	8,70	2,65	31,49	17,90		53,14									
6	19/03	7,53	51,43	3,21	7,40	2,89	31,79	16,70		183,88									
7	19/03	8,15	51,38	3,22	10,60	2,76	29,99	16,30		25,92									
8	19/03	8,87	51,43	3,26	6,90	2,72	31,74	15,80		93,20									
9	19/03	11,17	51,43	3,30	10,20	2,82	31,52	14,60											
10	20/03	11,40	51,31	2,85	11,30	3,45	32,42	13,90	0,91	26,39	57,63	4,24	18,64	19,49	0,00	0,00			
11	20/03	10,70	51,33	2,70	21,00	3,82	33,28	13,30	1,91	107,47	69,27	5,21	5,73	19,79	0,00	0,00			
12	20/03	13,18	51,26	2,66	22,00	4,27	33,89	12,90	1,56	26,56	55,83	2,43	22,82	18,93	0,00	0,00			
13	20/03	15,25	51,18	2,70	13,70	4,90	34,02	12,90		64,89									
14	21/03	5,75	51,34	2,50	16,30	5,69	34,70	12,60	0,82	187,59	32,89	2,63	1,75	62,72	0,00	0,00			
15	21/03	16,42	51,52	3,32	11,30	3,03	32,22	13,00	0,88	442,20	14,77	0,00	3,41	81,82	0,00	0,00			
16	21/03	18,50	51,51	3,03	26,40	3,09	32,27	12,70	4,12	4397,37	11,76	0,00	1,96	86,27	0,00	0,00			
17	25/03	15,20	51,98	1,60	5,50	5,43	34,69	13,80	1,72	10,45	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00			
18	25/03	17,05	52,11	1,71	24,76	4,02	33,52	13,40	2,01	1,27	10,00	5,00	5,00	80,00	0,00	0,00			
19	25/03	20,35	51,78	1,74	34,26	5,51	34,59	13,30	1,61	27,34	15,49	2,82	2,82	76,06	2,82	43,66			
20	25/03	21,93	51,85	1,75	33,60	5,67	34,72	13,00	1,06	31,70	2,11	0,00	0,42	89,45	8,02	33,76			
21	26/03	0,47	51,81	2,05	36,40	7,02	35,10	13,00	0,87	49,04	9,22	0,97	1,94	78,16	9,71	0,00			
22	26/03	3,57	52,21	2,20	41,14	5,00	34,60	12,80	1,06	1,77	21,43	0,00	9,52	69,05	0,00	0,00			
23	26/03	8,85	52,80	2,34	8,50	3,74	34,18	13,40	1,09	10,31	12,50	6,25	12,50	68,75	0,00	0,00			
24	26/03	12,13	52,99	2,20	36,70	3,68	34,73	13,40	1,19	16,78	2,97	0,99	10,89	83,17	1,98	0,00			
25	27/03	10,35	51,43	2,71	23,90	4,34	33,41	12,60	0,42	28,99	10,53	16,67	34,21	38,60	0,00	71,05			
26	27/03	12,85	51,49	2,91	27,70	3,76	32,62	12,90	1,51	18,29	64,77	0,00	22,73	12,50	0,00	0,00			
27	27/03	15,77	51,45	2,70	31,10	4,08	32,93	13,10	1,40	78,86	69,15	7,80	4,61	18,09	0,35	0,00			
28	27/03	18,68	51,47	2,96	31,60	3,71	32,71	13,10	1,12	38,67	16,91	5,04	12,23	65,83	0,00	54,32			
29	27/03	21,13	51,41	2,79	30,50	3,77	32,71	12,70	1,43	151,42	12,89	2,95	11,97	72,19	0,00	0,00			
30	27/03	23,57	51,48	2,98	29,90	3,50	32,58	13,00	2,76	636,17	10,27	0,00	0,11	89,62	0,00	0,00			
31	28/03	8,60	51,79	3,21	37,40	4,27	33,87	12,70	1,00	91,21	30,04	4,48	31,39	34,08	0,00	0,00			
32	28/03	10,53	51,74	3,07	7,20	4,64	34,10	12,50	1,22	114,44	22,95	2,73	43,72	30,05	0,55	0,00			
33	28/03	13,68	51,63	3,34	7,00	3,55	32,35	12,70	1,32	536,33	79,30	0,00	1,67	18,86	0,17	0,00			
34	28/03	16,60	51,45	2,93	8,50	3,79	32,78	12,90	1,43	155,39	45,36	2,58	11,86	40,21	0,00	37,11			
35/330	28/03	19,50	51,43	2,81		3,88	32,85	12,60	2,57	195,64	6,41	3,21	5,13	84,62	0,64	0,00			
36/330	29/03	5,23	51,43	2,81	7,11	3,87	32,82	12,70	2,98	380,67	40,63	3,13	3,13	53,13	0,00	0,00			