

SPECTRE DE FLUORESCENCE IN VIVO ET COMPOSITION DES PEUPELEMENTS PHYTO -  
PLANCTONIQUES EN ADRIATIQUE SEPTENTRIONALE

Lazzara L. et Innamorati M.

Istituto Botanico, Via Micheli 1, 50121 Firenze (Italia)

*Abstract* - Surface phytoplankton populations were sampled in Northern Adriatic Sea during August 1984 (Cruise ADRIA '84, N/O CNR "Bannock") and corrected excitation spectra of in vivo fluorescence, absorption spectra of acetic extracts and taxonomic analysis were carried out. The data show a good agreement between the taxonomic composition, the pigment content and the shape of fluorescence excitation spectra, which can also detect the phycobiline taxa: Cryptophyta in this case.

*Riassunto* - Durante il mese di agosto 1984 (Campagna ADRIA '84, N/O CNR "Bannock") sono stati campionati i popolamenti fitoplanctonici superficiali nell'Adriatico settentrionale e sono stati eseguiti gli spettri di eccitazione (corretti) della fluorescenza in vivo, quelli di assorbimento degli estratti acetici e le analisi tassonomiche. Si osserva una buona corrispondenza tra la composizione tassonomica, quella pigmentaria e la struttura degli spettri di eccitazione. Questi mettono anche in evidenza la (eventuale) presenza di taxa contenenti ficobiline: delle Cryptophyta nel caso presente.

La mesure spectrale de la fluorescence in vivo a été proposée, depuis quelques années, comme méthode d'identification, du moins grossière, de la composition taxonomique des peuplements phytoplanctoniques (Yentsch C.S. e Yentsch C.M., 1979). Cette approche est possible car les pigments accessoires qui caractérisent les différents groupes phytoplanctoniques ont des pics dans les spectres d'excitation de la fluorescence qui correspondent à peu près aux mêmes pics dans les spectres d'absorption et qui sont entre eux suffisamment éloignés.

Malgré la variabilité de l'émission de la fluorescence in vivo, liée aux facteurs de l'environnement ainsi qu'aux conditions physiologiques des organismes, cette méthode présente des aspects intéressants: sa rapidité et simplicité d'emploi, qui permet un contrôle pratiquement en continu, et une faible fluorescence in vivo des pigments chlorophylliens dégradés, par rapport aux mêmes pigments dans l'acétone.

Pendant la campagne ADRIA '84 (24.VIII - 27.IX.84, N/O CNR "Bannock") les mesures de fluorescence ont été effectuées tout directement sur l'eau marine en faible circulation avec la méthode suivante: spectres d'excitation corrigés (LS5 Perkin-Elmer); extraction des pigments dans l'acétone

100% immédiatement après filtration et conservation à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment de l'analyse (dégradation pratiquement nulle, après 20 jours \*); eau prélevée en continu juste à l'avant bateau (-1m), par pompe monovis (5 l/min) et mélangée dans un bac. A la vitesse moyenne du bateau (5 noeuds) l'eau qui passait à travers le spectrofluorimètre correspondait au mélange du dernier demi mille parcourue. A la sortie de l'appareil l'eau était recueillie et filtrée (Whatman GF/C) pour l'extraction dans l'acétone et fixée au Lugol (pH de conservation 7,63) pour l'analyse au microscope inversé. Par un bypass le flux du circuit ouvert pouvait être dévié dans un petit circuit fermé et maintenu en faible circulation pour la mesure du spectre ( $\Delta\lambda$  exc. et em. 10 nm, signal moyennée pour 16 sec, acquisition analogique et digitale avec normalisation aux max et visualisation en temps réel).

Quatrevingt échantillonnages ont été effectués; les résultats suivants proviennent d'une première analyse de soixante échantillons dont les points de prélèvement sont montrés en figure 1.

Dans l'ensemble des spectres on observe une relative homogénéité des formes et dans quelques cas un pic au voisinage de 550 nm (fig.2c, d). On peut notamment remarquer que:

- la forme des spectres entre 400 et 520 nm révèle, en plus de la présence de la chlorophylle a à 440 nm, celle des chlorophylles b ou c à 460 nm et de fucoxanthine ou peridinine à 490-520 nm (fig.2a,b); en général entre 400 et 520 nm les spectres se diversifient très peu indiquant que les rapports entre chlorophylle a et pigments accessoires restent grosso modo inchangés; cela a été bien vérifié dans les spectres des extraits acétoniques; de plus, les cas de variation des formes spectrales de la fluorescence à 490 nm correspondent, dans les extraits à des modifications dans le même sens du spectre d'absorption: voir du rapport chl a/caroténoïdes;

- dans les spectres des eaux moins riches en biomasse, il est possible de relever la présence d'un pigment ayant un maximum d'excitation à 550 nm qu'on ne trouve pas dans les extraits acétoniques: probablement une phycoerythrine.

La comparaison avec les résultats des analyses au microscope permet de confirmer ces observations:

- vues les classes d'appartenance des organismes, (*Bacillariophyceae*, *Dinophyceae*, *Prymnesiophyceae* et *Cryptophyceae*) les pigments prévus sont

---

(\*) Les pigments photosynthétiques, notamment les caroténoïdes, peuvent se dégrader jusqu'aux 20-40 % après 7 jours, si le filtre est congelé et gardé dans des tubes d'essais en air à l'obscurité à  $-20^{\circ}\text{C}$  (Lazzara L., 1983).

en fait: chlorophylle a, chlorophylle c, fucoxanthine, peridinine et phycobilines, comme déjà observé à partir des spectres de fluorescence in vivo.

- une difference remarquable existe entre les échantillons (fig.2a, b) des eaux directement soumises à l'influence du Po (fig.1), ou les

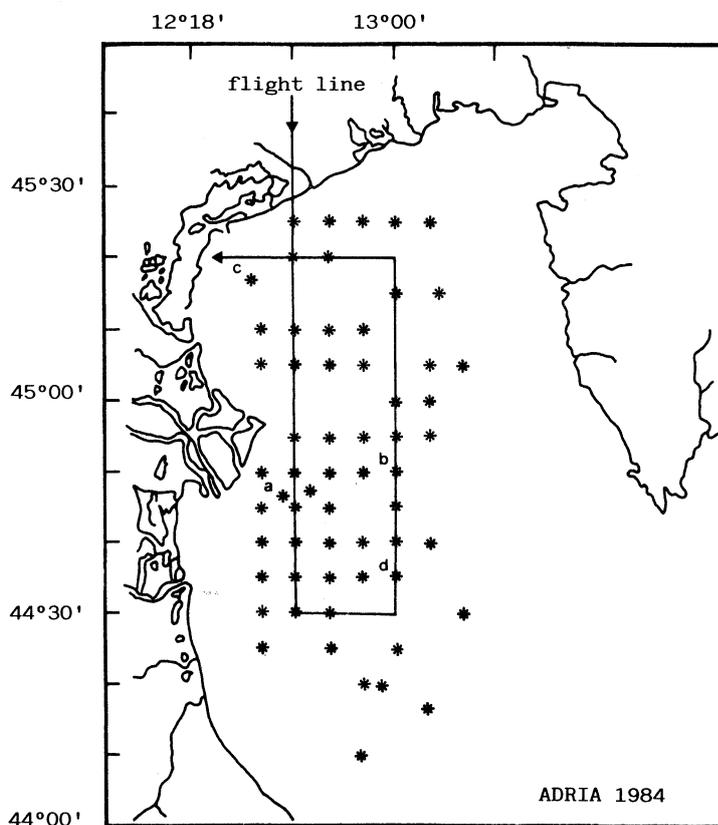


figure 1. Distribution géographique des points de prélèvement.

peuplements sont nettement dominés par les diatomées (97% et 91%), et les deux derniers (fig.2 c,d) des eaux plus éloignées du delta, où les cryptophycées deviennent importantes (66% et 14%) et la repartition parmi les quatre classes considérées, est plus équilibrée.

Les mesures de fluorescence ont pu être effectuées jusqu'à un niveau de  $0,3 \text{ mg chl } a \text{ m}^{-3}$ , mais dans ces cas, où la biomasse est faible, une amélioration des spectres de la fluorescence due au phytoplancton vivant pourrait être obtenue, par correction de la fluorescence due à la gilvine (substance jaune). Il ressort de façon évidente la nécessité de faire des extractions aussi bien en acétone qu'en phosphate tamponné, pour estimer le contenu pigmentaire et donc la

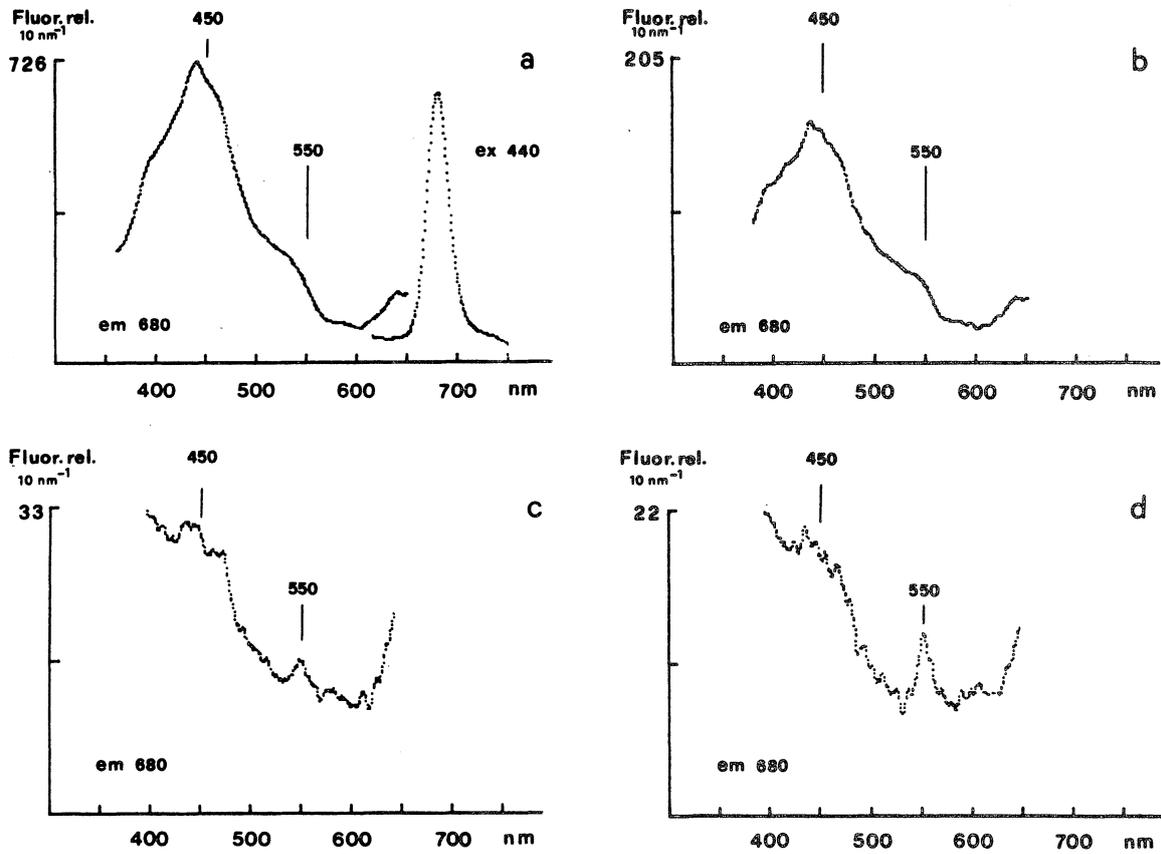


figure 2 a,b,c,d. Spectres d'excitation (corrigés) de la fluorescence in vivo des peuplements phytoplanctoniques.

biomasse phytoplanctonique des eaux marines.

En conclusion les formes des spectres de fluorescence refléchissent les différences de composition taxonomique des peuplements naturels.

#### Références

- LAZZARA, L., 1983 - Thèse de 3eme cycle on Oceanologie, Univ. Pierre et Marie Curie (Paris VI), 210 pp.
- YENTSCH, C.S., YENTSCH, C.M., 1979 - Journal of Marine Research, 37 (3): 471-483.