

Récolte du phytoplancton

Le phytoplancton était récolté, par filtration de 265 ml d'eau de mer, sur des filtres en fibre de verre Whatman GF/F de 25 mm de diamètre. Les filtres étaient congelés à bord dans l'azote liquide, puis conservés à -80°C au laboratoire avant l'analyse.

Extraction des pigments

L'extraction des pigments était réalisée dans 4.8 ml d'acétone à 93% (pigments dans l'acétone à 90% tenant compte de l'eau retenue sur le filtre), en broyant le filtre avec une baguette de verre à l'extrémité fraîchement cassée et en laissant le broyat pendant environ 12 h au réfrigérateur à 4°C . Après centrifugation 5 minutes à 3500 t.p.m, la fluorescence du surnageant était mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre HITACHI F4500.

Estimation de la concentration des pigments chlorophylliens

La concentration des pigments chlorophylliens [chlorophylle a, b et c (c_1+c_2 ; c_3); divinyl-chlorophylle a et b] et de leurs dérivés de type phéopigments a été estimée par la méthode modifiée de Neveux et Lantoiné (1993).

Méthode modifiée de mesure des pigments chlorophylliens

(Neveux et Lantoiné, 1993)

- Mode d'acquisition des données de fluorescence : réalisation d'une série de 31 spectres d'émission fixant d'abord la longueur d'onde d'excitation à 390 nm puis l'incrémentant de 3 en 3 nm jusqu'à 480 nm. Utilisation de 806 points de mesure dans le calcul des concentrations en pigments (Neveux et al., 2003).
- Introduction d'un nouveau standard dans l'analyse, la chlorophylle c_3 et une analyse qui élimine les solutions négatives.

Calibration du spectrofluorimètre

La calibration du spectrofluorimètre a été réalisée à partir de solutions standards préparées au laboratoire Arago (Neveux et Lantoiné, 1993), excepté la chlorophylle c_3 qui a été achetée chez DHI (Danemark).

Abréviations dans les tableaux

chl a = chlorophylle a	phe a = phéopigments dérivés de la chl a
chl b = chlorophylle b	dvppa = phéopigments dérivés de la divinyle-chl a
chl c = chlorophylle $c_1 + c_2$	Tchl a = chl a + dvchla
dvchla = divinyle-chlorophylle a	Tphe a = phe a + dvppa.
dvchlb = divinyle-chlorophylle b	

Remarque sur les valeurs de phéopigments : les valeurs calculées des phéopigments dérivés des chlorophylles c et des chlorophylles b ne sont jamais significatives et ne figurent donc pas dans les tableaux. En ce qui concerne les valeurs calculées des phéopigments dérivés de la dv-chl a, elles nous paraissent intuitivement moins représentatives de ce qu'elles sont censés qualitativement représenter.

Réflexions sur Introduction de la chl c3 dans l'analyse

- **chl c3 = plusieurs molécules ayant des spectres d'absorption voisins?**

Le standard vendu par DHI présente un faible rendement de fluorescence et un spectre d'émission avec deux pics d'égale intensité. Après avoir interrogé différents spécialistes internationaux, il apparaît que les propriétés d'émission de fluorescence de la chl c3 sont mal connues, même si l'on reconnaît généralement que cette molécule a un plus petit rendement de fluorescence que les chlorophylles c1 et c2. Récemment, j'ai pu obtenir de S.W. Wright (CSIRO, Hobart-Australie) via Harry Higgins (CSIRO-Hobart) des spectres d'émission de chl c3. Contrairement au standard de DHI, le second pic d'émission apparaît nettement plus faible que le premier et le rapport des pics est du même ordre de grandeur que celui observé pour les chlorophylles c1 et c2. La question qui se pose est: l'appellation chl c3 regroupe-t-elle plusieurs molécules ayant des spectres d'absorption voisins?

- **chl c3 améliore l'analyse des maximums profonds de chl a**

En ce qui concerne l'analyse spectrofluorimétrique sur les échantillons des campagnes DIAPALIS, l'introduction de la chl c3 de DHI améliore nettement l'analyse dans les échantillons des maximums profonds de chl a. Ceci est particulièrement net si l'on examine l'effet obtenu sur la somme des carrés des résidus (R^2 dans Neveux et Lantoiné) qui est réduite d'un facteur 3 et sur la somme des carrés des résidus pondérés (E^2 dans Neveux et Lantoiné) qui est réduite d'un facteur 10. D'autre part la valeur de chl c ($c1 + c2$) n'est que légèrement inférieure (10-15%) à celle calculée sans prendre en compte la chlorophylle c3.

Références

- Neveux J, Lantoiné F (1993) Spectrofluorometric Assay of Chlorophylls and Phaeopigments Using the Least Squares Approximation Technique. Deep - Sea Research Part I - Oceanographic Research Papers 40: 1747-1765
- Neveux J, Dupouy C, Blanchot J, Le Bouteiller A, Landry MR, Brown SL (2003) Diel dynamics of chlorophylls in high-nutrient, low-chlorophyll waters of the equatorial Pacific (180 degrees): Interactions of growth, grazing, physiological responses, and mixing - art. no. 8140. Journal of Geophysical Research Oceans 108: NIL_1-NIL_17