

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité

Océanologie Biologique et Environnements Marins

présentée par

Lionel PAWLOWSKI

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Sujet de la thèse:

**MODÉLISATION DE L'INCORPORATION DU CARBONE
PHOTOSYNTHÉTIQUE EN ENVIRONNEMENT MARIN
PILOTÉ PAR ORDINATEUR**

Soutenue le 22 septembre 2004

devant le jury composé de:

MM.	Gilles	BŒUF	Président
	Jean-Christophe	POGGIALE	Rapporteurs
	Yvan	LAGADEUC	
	Antoine	SCIANDRA	Directeur de thèse
	Marina	LEVY	Examineurs
	Luigi	LAZZARA	

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité

Océanologie Biologique et Environnements Marins

présentée par

Lionel PAWLOWSKI

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PARIS 6

Sujet de la thèse:

**MODÉLISATION DE L'INCORPORATION DU CARBONE
PHOTOSYNTHÉTIQUE EN ENVIRONNEMENT MARIN
PILOTÉ PAR ORDINATEUR**

Soutenue le 22 septembre 2004

devant le jury composé de:

MM.	Gilles	BŒUF	Président
	Jean-Christophe	POGGIALE	Rapporteurs
	Yvan	LAGADEUC	
	Antoine	SCIANDRA	Directeur de thèse
	Marina	LEVY	Examineurs
	Luigi	LAZZARA	

Modélisation de l'incorporation du carbone photosynthétique en environnement marin piloté par ordinateur

Dans le cadre du développement d'un nouveau modèle de croissance phytoplanctonique, une démarche théorique et expérimentale est menée afin d'évaluer la pertinence de certaines approches couramment employées en modélisation biogéochimique. Dans un premier temps, ce travail évalue dans quelle mesure un modèle de croissance phytoplanctonique validé à partir d'expériences réalisées en condition stable est capable de reproduire correctement les variations de la biomasse lorsqu'il est utilisé avec des forçages journaliers variables. Nous étudions aussi si des modèles très simples de colimitation azote/lumière sont capables de représenter l'évolution du carbone particulaire dans le milieu marin et dans quelle mesure le recours à un rapport chlorophylle sur carbone constant est applicable pour estimer la biomasse en carbone.

L'étude théorique est parallèle à la conduite d'expériences réalisées en chémostat sur des cultures de diatomées *Thalassiosira weissflogii*. Un dispositif automatisé permet de réaliser des mesures à haute fréquence et d'imposer différents régimes lumineux (continu, cyclique, apériodique). Les mesures acquises lors de ces expériences ont permis l'identification des paramètres et la validation du modèle de croissance à l'équilibre et d'étudier la réponse des différents descripteurs de la population aux variations journalières du flux de photons. Ces expériences ont également mis en évidence le contrôle de la division cellulaire par une horloge interne et le couplage complexe de l'absorption du substrat avec le flux de photons.

La comparaison des sorties du modèle aux mesures souligne que ces propriétés, généralement pas représentées dans les modèles ou alors de façon très sommaire, ont des conséquences significatives sur l'adéquation entre simulations et observations. Il apparaît également que la validité d'un modèle utilisé en dehors de son domaine d'identification est *a priori* incertaine. Cette étude montre également que des modèles très simples peuvent se révéler, à l'équilibre, compétitifs en terme de capacité à simuler une biomasse en carbone par rapport à des modèles plus élaborés. Cependant, ils deviennent beaucoup moins performants pour des forçages lumineux journaliers variables. Enfin, les résultats expérimentaux et théoriques montrent que l'estimation de la biomasse en carbone à partir de mesures de chlorophylle, en utilisant un rapport chlorophylle sur carbone constant, conduit à des incertitudes importantes. Leurs effets peuvent être significatifs pour la capacité d'un modèle à représenter la biomasse au sein d'un écosystème.

Mots clés: chémostat, modélisation, *Thalassiosira weissflogii*, validation, identification, photoadaptation, absorption, division cellulaire.

Modelling the incorporation of carbon through photosynthesis in a computer controlled marine environment

In parallel to the development of a new phytoplankton growth model, a theoretical and experimental approach is used to evaluate some common trends in biogeochemical modelling. First, we evaluate how a model which parameters are identified at steady-state behaves when used with dynamic forcings such as light variation due to vertical mixing. Secondly, we study if simpler models may be competitive with complex ones in terms of reliability for steady-state and dynamic conditions of forcings. Finally, we evaluate if the use of constant chlorophyll to carbon ratios is suitable to estimate particulate carbon concentrations from chlorophyll measurements.

The theoretical approach is conducted in parallel to experiments in chemostat on the diatoms *Thalassiosira weissflogii*. An automated system is used to perform high frequency samplings and to program different light regimes (continuous, cyclic, aperiodic) into the culture devices and levels of nitrate limitations. Acquired data were used to calibrate and validate the model at steady-state and to study the responses of the different parameters of the population for daily variation of the light regime. These experiments have highlighted the control of cell division by a biological clock and the complex dependency of nitrate uptake with light intensity.

The comparison between model outputs and observations has shown that these properties, generally poorly or not represented within primary production models have significant consequences on their capacity to simulate biomass in a realistic way. It also appears that it is almost impossible to predict the validity of a model is uncertain outside its domain of calibration. In some cases simulations are close to observation. In other situations, output are unreliable. This study has also shown that simpler models are able to simulate biomass at steady-state but are far less able to reproduce observations than complex models when used with dynamic forcings. We also demonstrated that the use of a constant chlorophyll to carbon ratio to estimate particulate carbon leads to significant uncertainties when these models are used in the context of ecosystem or biogeochemical modelling.

Keywords: chemostat, modelling, *Thalassiosira weissflogii*, validation, identification, photoadaptation, uptake, cell division.

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein du Laboratoire d'Océanographie de Villefranche/Mer et dans le cadre du projet COMORE de l'INRIA de Sophia-Antipolis. Je tiens à remercier les membres de ces deux équipes pour leur accueil, leur soutien logistique et pour le plaisir que j'ai eu à les rencontrer notamment en raison de leur formations scientifiques et culturelles très variées.

Je remercie Antoine Sciandra et Olivier Bernard qui ont dirigé et co-encadré cette thèse. Leurs approches complémentaires et interdisciplinaires sur la modélisation, l'expérimentation et la biologie du phytoplancton m'ont permis d'évoluer sans encombre au travers de ces différentes disciplines. Ils m'ont permis de me former à diverses approches et techniques et ont contribué bien au-delà des résultats de cette thèse à enrichir mes connaissances dans des domaines très variés. Antoine et Olivier m'ont fourni une aide inestimable à toutes les étapes de ce long travail et particulièrement pour la rédaction de ce document.

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté de porter un œil critique sur ce manuscrit :

Monsieur Gilles Boeuf pour avoir accepté de présider ce jury.

Messieur Jean-Christophe Poggiale et Yvan Lagadeuc pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse.

Madame Marina Levy et Monsieur Luigi Lazzara pour avoir accepté d'être examinateurs de ce travail.

Je tiens également à remercier Gilbert Malara, Cédric Prévost et Bruno Sialve pour leur aide, leur disponibilité et leur sympathie. Leurs contributions au dispositif de culture m'ont permis de réaliser les expérimentations dans de très bonnes conditions. Joséphine Ras, Céline Heyndrickx et Stéphanie Sabini m'ont fourni chacune une aide pour les dosages de pigments et les mesures aux CHN. Les coups de pouce de Stéphanie m'ont permis de résoudre rapidement de nombreux problèmes. Je remercie également Emilie Le Floc'h pour la disponibilité et l'aide qu'elle m'a apporté dans les premiers stades du développement de BioLOV.

J'adresse des remerciements particuliers à Corinne et Delphine. Les moments partagés ensemble que ce soit devant une tasse de thé à refaire le monde, dans les profondeurs du littoral niçois à traquer la petite bête à photographier, ont largement contribué à l'épanouissement "extrascientifique" de cet animal bizarre qu'est le thésard. Leur soutien m'a également permis d'avoir un regard lucide lors des inévitables moments de doute qui jalonnent une thèse. Je remercie également Frédérique, Christian, Aline, Didier, Lionel, Ricou, Jean-Marc, Eric, Cathy et Philippe pour leur amitié et toutes les bonnes choses que nous avons partagé et partagerons, sans oublier non plus les étudiants du laboratoire d'océanographie.

J'adresse également mes remerciements à Paul Nival et Alain Nierga. Ils ont toujours été des oreilles attentives et promptes à aider dans la résolution de problèmes liés au déroulement d'une thèse.

Je ne pourrais également pas terminer ces remerciements sans un mot pour mes parents qui me soutiennent dans mes entreprises hasardeuses depuis trop longtemps, et ceci en dépit du fait que je les vois trop peu souvent.

Alors que dans ces lignes se termine un chapitre important de ma vie, ces différentes personnes ont toutes apporté des réponses aux nombreuses questions scientifiques ou existentielles que pose ce long travail qu'est une thèse et encore une fois, je les en remercie !

Table des matières

Chapitre I - Introduction générale

I. La production primaire, un enjeu de l'océanographie contemporaine.....	11
II. Une estimation difficile de la production primaire.....	12
III. Organisation du manuscrit.....	15

Chapitre II - Environnements contrôlés et chémostats

I. Introduction.....	19
II. Des écosystèmes en laboratoire.....	19
III. Méthodes et propriétés des cultures planctoniques.....	22

Chapitre III - Matériel et méthodes

I. Introduction.....	32
II. <i>Thalassiosira weissflogii</i>	32
III. Contrôle de l'environnement physico-chimique et des caractéristiques biologiques de la culture.....	33
IV. Mesures réalisées.....	38

Chapitre IV - Modélisation de la croissance phytoplanctonique

I. Introduction.....	45
II. Représentations classiques de la croissance du phytoplancton dans les modèles de réseaux trophiques : loi du minimum et loi multiplicative.....	45
III. Des modèles dédiés à l'étude de la croissance du phytoplancton.....	48
IV. Hypothèses et formulation du modèle BIOLOV.....	54
V. Choix d'une approche expérimentale.....	63

Chapitre V - Caractérisations expérimentale et théorique des effets de la lumière et de la limitation en azote sur des cultures à l'équilibre

I. Introduction.....	69
II. Démarche expérimentale.....	70
III. Evolution de principaux paramètres de la culture.....	71
IV. Identification des paramètres des modèles.....	78
V. Comparaison des simulations aux observations.....	87
VI. Conclusion.....	89

Chapitre VI - Croissance du phytoplancton dans une couche de mélange profonde hivernale

I. Introduction.....	93
II. De la réalité du milieu marin à celle de l'expérimentation en chémostat.....	94
III. Déroulement de l'expérience.....	97
IV. Apports pour la modélisation.....	106
V. Synthèse et discussion.....	111

Chapitre VII - Croissance phytoplanctonique carencée en nitrate sous éclairage cyclique

I. Introduction.....	123
II. Déroulement de l'expérience.....	123
III. Evolution générale de la population.....	124
IV. Simulations dynamiques vs. observations.....	127
V. Identification des sources des écarts aux données.....	128
VI. Synthèse et discussion.....	133

Chapitre VIII – Comparaison de BioLOV à des modèles plus simples.

I. Introduction.....	139
II. Représentation des limitations simultanées substrat/lumière par le modèle de monod... 140	140
III. Comparaison des modèles dans le cas d'un système sous différents équilibres.....	143
VI. Comparaison des modèles dans le cas de cultures sous éclairages variables.....	145
V. Synthèse et conclusions.....	148

Chapitre IX – Discussion générale et perspectives.

I. Rappel du contexte.....	154
II. Faits expérimentaux marquants et leurs conséquences pour la modélisation de la production primaire.....	154
III. Perspectives.....	162

Conclusion.....	164

Références bibliographiques.....	166

Annexe.....	176

Table I : Listes des abréviations

ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
ATPases	: Adénosine Tri-Phosphatase
BioLOV	: Modèle de croissance du phytoplancton développé dans cette thèse.
BioLOVabs	: Modèle BioLOV intégrant une absorption du nitrate dépendante de la lumière.
C:Chl	: Rapport Carbone sur Chlorophylle a
Chl <i>a</i> :C	: Rapport Chlorophylle a sur Carbone
CO ₂	: Dioxyde de Carbone
COP	: Carbone Organique Particulaire
CID	: Carbone Inorganique Dissous
<i>d</i>	: Taux de dilution (j^{-1})
E	: Dose de photons reçue depuis le début de la journée ($\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.j^{-1}$)
HL	: Culture sous fort éclairage lumineux
I	: Intensité lumineuse instantanée ($\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.s^{-1}$)
LL	: Culture sous faible éclairage lumineux
MCO	: Moindre Carré Ordinaire
MonodMin	: Modèle Monod intégrant une double limitation lumière/azote formulée selon une loi du minimum
Monodmult	: Modèle Monod intégrant une double limitation lumière/azote formulée selon une loi multiplicative
MonodQuot	: Modèle Monod utilisant une formulation multiplicative
NOP	: Azote Organique Particulaire
NPZ	: Nutriments Phytoplancton Zooplancton
NPZD	: Nutriments Phytoplancton Zooplancton Detritus
Nt	: Azote particulaire total
PhCyc	: Jeu de paramètres du taux de photosynthèse de BioLOV identifiés en régime cyclique
PhEqHL	: Jeu de paramètres du taux de photosynthèse de BioLOV identifiés sous fort éclairage
PhEqLL	: Jeu de paramètres du taux de photosynthèse de BioLOV identifiés sous faible éclairage
POMME	: Programme Océan Multidisciplinaire Méso Echelle
PSII	: Photosystème II
Rubisco	: Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase
SEMPO	: Simulateur d'Environnements Marins Piloté par Ordinateur
<i>Sin</i>	: Concentration en Substrat limitant apporté par le milieu de culture dans le chimostat
Syncyc	: Jeu de paramètres du terme de photoadaptation de BioLOV identifiés en régime cyclique
SynEq	: Jeu de paramètres du terme de photoadaptation de BioLOV identifiés à l'équilibre
TEP	: Transparent Exopolymeric Particles
Ze	: Epaisseur de la couche euphotique (m)
Zm	: Epaisseur de la couche de mélange (m)

Table II : Liste des variables et paramètres du modèle BioLOV

Variables	Symboles	Unités
Nitrate	S	$\mu\text{mol N.L}^{-1}$
Azote particulaire non chlorophyllien	N	$\mu\text{mol N.L}^{-1}$
Azote particulaire chlorophyllien	L	$\mu\text{mol N.L}^{-1}$
Carbone particulaire	C	$\mu\text{mol C.L}^{-1}$
Quota en azote particulaire total	Q	$\mu\text{mol N}.\mu\text{mol C}^{-1}$
Quota en azote particulaire chlorophyllien	Q_L	$\mu\text{mol N}.\mu\text{mol C}^{-1}$
Quota en azote particulaire non chlorophyllien	Q_N	$\mu\text{mol N}.\mu\text{mol C}^{-1}$

Paramètres	Symboles	Unités
<u>Forçages</u>		
Intensité lumineuse	I	$\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
Taux de dilution	Sin	$\mu\text{mol N.L}^{-1}$
<u>Absorption du nitrate</u>		
Taux maximal d'absorption	ρm	$\mu\text{mol N}.\mu\text{mol C}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Coefficient de demi saturation	ks	$\mu\text{mol N.L}^{-1}$
<u>Synthèse des pigments</u>		
Taux de synthèse maximal	$k(l)$	s.d.
	kl	s.d.
Coefficient d'ajustement	kc	$\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
<u>Photosynthèse</u>		
Taux de photosynthèse maximal	$a(l)$	$\mu\text{mol C}.\text{j}^{-1}$
	α	$\mu\text{mol C}.\mu\text{mol N}^{-1}.\text{j}^{-1}$
coefficient de demi saturation	ki	$\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
<u>Dégradation et respiration</u>		
Taux de respiration	λ	j^{-1}
Taux de dégradation des pigments	β	j^{-1}
<u>facteur de conversion</u>		
azote chlorophyllien:Chl a	f	$\mu\text{mol N}.\mu\text{g Chla}^{-1}$

CHAPITRE I
Introduction générale

Chapitre I

Introduction générale

I. LA PRODUCTION PRIMAIRE, UN ENJEU DE L'OCEANOGRAPHIE CONTEMPORAINE.	11
II. UNE ESTIMATION DIFFICILE DE LA PRODUCTION PRIMAIRE.....	12
III. ORGANISATION DU MANUSCRIT.	15

I. La production primaire, un enjeu de l'océanographie contemporaine.

Les zones de forte production phytoplanctonique suscitent depuis longtemps l'intérêt des océanographes car elles sont généralement associées à d'abondantes ressources halieutiques. De plus, outre le fait qu'il est le premier maillon des chaînes trophiques marines, le phytoplancton joue également un rôle majeur dans le cycle du carbone. En effet, le phytoplancton contribue de façon significative à la séquestration du dioxyde de carbone (CO_2) atmosphérique dans la couche euphotique, et à sa répartition dans les réseaux trophiques marins. Le CO_2 est généralement considéré comme étant l'un des facteurs principaux responsable du réchauffement planétaire. Il contribue pour 60% au forçage radiatif lié au gaz à effet de serre, et n'a cessé d'augmenter depuis le début de l'ère industrielle (Houghton *et al.*, 2001). Dans les années 1980, la prise de conscience des risques que constitue l'augmentation de la concentration en CO_2 dans l'atmosphère pour l'évolution du climat a conduit la communauté scientifique à intensifier les recherches sur le réseau pélagique, notamment sur le phytoplancton, et ce, dans le contexte du cycle biogéochimique global du carbone.

La part du phytoplancton dans le règne végétal est peu significative, **de 1 à 2% de la biomasse végétale mondiale**, mais paradoxalement le phytoplancton **fixe annuellement 30 à 60% du carbone inorganique global** (Sakshaug et al., 1997). L'incorporation du carbone inorganique dans le réseau trophique océanique constitue ce qui est couramment appelé la **pompe biologique du CO_2** (Gammon, 1986). La production primaire phytoplanctonique (matière organique produite par les organismes autotrophes) joue donc un rôle très significatif dans la régulation du cycle du carbone. Par conséquent, de nombreux efforts de recherche portent sur les facteurs qui régulent cette production en amont ou en aval. La disponibilité en sels nutritifs, la lumière et la température constituent les principaux facteurs qui contrôlent en amont la fixation du carbone inorganique dissous par le phytoplancton. En aval, la prédation permet le transfert du carbone vers d'autres niveaux trophiques et contribue *in fine* à l'exportation de matière organique en dehors de la couche euphotique et à sa séquestration sur les fonds océaniques.

L'étude du phytoplancton présente donc un intérêt évident pour comprendre le rôle qu'il joue non seulement dans la régulation du climat, mais aussi dans le fonctionnement des écosystèmes marins, notamment ceux exploités par l'homme (pêche, aquaculture et tourisme). **La compréhension des facteurs qui régulent la production primaire est apparue comme un enjeu majeur de la recherche océanographique contemporaine** (Falkowski *et al.*, 1998). La compréhension des effets résultant des interactions entre processus physiques et biologiques nécessite des approches de laboratoire et de terrain qui couvrent une large gamme d'échelles spatio-temporelles, allant de l'étude des propriétés cellulaires des microalgues aux observations globales issues de l'imagerie satellitaire.

La problématique de cette thèse s'inscrit dans l'étude écophysiological de la photoadaptation du phytoplancton autotrophe en réponse aux facteurs du milieu qui régulent la fixation du carbone. Par extension, elle s'inscrit également dans la démarche de modélisation de la production primaire et connaît donc des applications d'ordre biogéochimique à l'échelle régionale ou globale.

II. Une estimation difficile de la production primaire.

Les observations satellitaires constituent actuellement le seul moyen permettant d'estimer globalement et à relativement haute fréquence les variations de la production primaire (Antoine *et al.*, 1996). Ces estimations reposent sur des mesures de « la couleur de l'océan » qui permettent de déterminer les teneurs superficielles en chlorophylle. Ces teneurs constituent la plupart du temps des entrées de modèles qui permettent d'estimer les flux de carbone (Behrenfeld & Falkowski, 1997). Mais ces modèles ne tiennent absolument pas compte de la dynamique du phytoplancton, notamment aux petites échelles temporelles. En effet, grâce à la photoadaptation, le phytoplancton régule son contenu pigmentaire en réponse aux variations du flux de photons reçu. D'autre part, la photoadaptation est elle-même sous la dépendance des ressources nutritives (Rhee & Gotham, 1981; Chalup & Laws, 1990; Sciandra *et al.*, 1997), l'azote inorganique entre autres qui constitue, dans la majeure partie des océans, le principal élément inorganique limitant. De ce fait, l'interaction des flux de photons et des

nutrilites joue un rôle capital sur la synthèse pigmentaire des cellules, et donc sur la photosynthèse. **Dans ces conditions, on peut légitimement se poser la question de savoir dans quelle mesure l'utilisation d'un rapport carbone/chlorophylle phytoplanctonique constant dans les modèles mathématiques n'est pas la cause d'un biais significatif dans l'estimation d'une production primaire réalisée au sein d'un environnement marin caractérisé par une importante variabilité spatio-temporelle des facteurs biotiques.**

Aux échelles spatio-temporelles caractéristiques d'un site océanique, la production primaire peut également être estimée à partir de modèles biogéochimiques couplés à des modèles hydrodynamiques, capables de prendre en compte plus finement les interactions entre processus physiques et biologiques. Dans ce type de modèle, la production phytoplanctonique est calculée d'après les conditions d'insolation, de sels nutritifs et de température avec des formulations de complexité variable qui nécessitent dans tous les cas des moyens de calculs importants. Cependant, ces modèles sont sujets à caution parce que **leur formulation s'inspire généralement de résultats d'expériences réalisées au laboratoire avec des populations monospécifiques placées dans des conditions constantes d'intensité lumineuse, de température et de sels nutritifs**, c'est-à-dire très différentes de celles de l'environnement marin. En effet, dans ce dernier, les cellules doivent s'adapter en permanence à une importante variabilité des facteurs de croissance qui, de surcroît, peuvent agir de façon concomitante. La colimitation, rarement abordée expérimentalement, est donc modélisée de façon essentiellement empirique. En définitive, on ne connaît actuellement pas le biais qui résulte de l'application de modèles mono-facteur validés expérimentalement à l'état stable à des systèmes dynamiques dans lesquels les processus peuvent être régulés simultanément par plusieurs facteurs présentant, à l'échelle des organismes, une grande variabilité. **Un des objectifs de cette thèse est donc d'évaluer le degré d'adéquation de modèles de production phytoplanctonique élaborés et validés à l'équilibre à des conditions de croissance caractérisées par des limitations variables et simultanées en lumière et en nitrate.**

Aborder cette question requiert une double approche expérimentale et théorique. L'expérience au laboratoire est complémentaire des observations acquises en mer. En effet, les campagnes permettent d'observer les processus *in situ* mais les mesures réalisées, coûteuses, ponctuelles et à fréquence limitée ne permettent pas d'appréhender toute la complexité des phénomènes, soumis à une multitude d'interactions de nature diverse que l'on ne maîtrise pas. A l'opposé, le laboratoire offre un environnement permettant un

échantillonnage fréquent et plus ciblé qu'en mer. Néanmoins, la plupart des conditions de culture testées que l'on trouve dans la littérature restent encore très caricaturales. En effet, les dispositifs capables de contrôler en temps réel, en continu, et sur de longues périodes plusieurs paramètres du milieu sont encore assez rares, ce qui présente des inconvénients évidents. De fait, la plupart des phénomènes d'adaptation ne s'expriment que dans des régimes dynamiques variables : l'existence de cycles circadiens endogènes, le conditionnement de certains processus par les forçages rencontrés précédemment par les cellules, la réponse à des changements rapides et imprévisibles des conditions de croissance...

Cette thèse utilise donc une approche expérimentale propre à faire varier plusieurs paramètres du milieu simultanément et à réaliser un échantillonnage temporel diversifié et dense. La finalité de l'automate de culture que nous avons utilisé n'est pas tant de recréer la variabilité exacte des conditions de croissance rencontrées en mer (ce qui est de toute façon impossible), que de permettre l'étude de la réponse des algues, notamment leur photoadaptation, à des forçages caractéristiques de situations typiques (couche de mélange profonde, cycles circadiens par exemple). Les données acquises lors de ces expériences permettent de comprendre les mécanismes impliqués, et de développer de nouveaux modèles de croissance. **Ce travail se propose également de concevoir et de valider structurellement un nouveau modèle de croissance autotrophe régie par des flux de photons et d'azote.**

La croissance phytoplanctonique peut être modélisée de façon plus ou moins complexe. D'un côté, les modèles biogéochimiques de type NPZD ont tendance à intégrer une formulation simplifiée de la production primaire au profit d'un temps de calcul réduit. Cette simplification est généralement justifiée par le fait que ces modèles fonctionnant à une échelle de temps supérieure à la journée. Cependant, la production primaire moyenne journalière calculée dans ces conditions ignore les fluctuations de la photosynthèse à l'échelle caractéristique de la photoadaptation, c'est-à-dire l'heure. A l'opposé, les physiologistes ont développé des modèles mécanistiques à l'échelle de fonctionnement de la cellule phytoplanctonique, mais qui sont généralement trop complexes pour pouvoir être intégrés dans des modèles biogéochimiques de production.

La vocation des expériences conduites dans ce travail a donc également été de reconstituer des situations de référence permettant de tester la capacité de modèles de complexités variables à représenter la réponse des descripteurs du phytoplancton

(carbone, chlorophylle, nombre de cellules...) à des conditions variables de colimitation. Il s'est agit d'évaluer le gain potentiel d'une complexification des modèles de production primaire par rapport aux formulations empiriques traditionnellement utilisées.

III. Organisation du manuscrit.

Notre travail, organisé en 5 sections, aborde la photoacclimatation du phytoplancton autotrophe en utilisant de façon complémentaire expérimentation et modélisation.

Dans la première section, nous présentons le dispositif utilisé lors des expériences. Le chapitre II introduit les concepts d'environnements contrôlés et de chémostats. Nous présentons d'abord l'intérêt de ce type de système pour l'étude de processus au sein d'un environnement artificiel reconstitué, dont les conditions sont néanmoins caractéristiques d'un milieu type. Nous soulignons notamment la difficulté que constitue la conception d'un environnement marin artificiel. Le principe de fonctionnement des chémostats est présenté. Dans le chapitre III, nous présentons en détail le système de culture automatisé grâce auquel l'environnement physico-chimique des algues est contrôlé, et leur mesures automatisées.

La seconde section (chapitre IV) est consacrée à la modélisation de la croissance du phytoplancton. Après un état de l'art et un bilan des caractéristiques, forces et faiblesses des modèles de croissance actuels, nous présentons les hypothèses biologiques du modèle BioLOV, puis détaillons ses propriétés mathématiques. La seconde partie de ce chapitre présente les expériences destinées à fournir les jeux de données pour identifier les paramètres de BioLOV, et tester ce dernier dans des conditions de croissance variables au cours du temps.

La troisième section (chapitre V, VI, VII) est consacrée à l'interprétation phénoménologique des observations acquises lors des expérimentations, ainsi qu'à leur implication pour le développement de modèles. Ces chapitres sont organisés selon le même schéma: les différentes propriétés biologiques sont en premier lieu déduites des résultats expérimentaux. Ensuite, les sorties du modèle BioLOV sont comparées à ces mêmes résultats, ce qui a pu nous conduire à revoir sa formulation mathématique.

Le chapitre V constitue le point de départ expérimental de ce travail: au travers de l'approche

classique de cultures à l'équilibre, l'expérience proposée permet de connaître le comportement qualitatif des cellules pour différents niveaux d'intensité lumineuse et de dilution. Les données recueillies constituent la matière première pour l'identification et la validation à l'équilibre du modèle BioLOV. Dans le chapitre VI, nous abordons le cas typique de la production primaire au sein d'une couche de mélange profonde où la profondeur de la couche euphotique est inférieure à celle de la couche de mélange et où les nitrates ne sont pas limitants pour la croissance. Les résultats obtenus permettent de discuter des effets de la synchronisation de la population sur le couplage entre photosynthèse et absorption de nitrate. Le modèle est ensuite testé dans ces conditions, et une formulation différente de ce processus est proposée. Grâce à une expérience au cours de laquelle les algues sont soumises à une photopériode et le nitrate constitue un facteur limitant, le chapitre VII tente de préciser l'existence éventuelle d'un contrôle circadien de la division et de l'activité photosynthétique par une horloge endogène.

Dans la quatrième section de ce manuscrit (chapitre VIII), nous testons les propriétés de modèles empiriques (loi du minimum, loi multiplicative) traditionnellement utilisés en biogéochimie, que nous comparons ensuite au modèle BioLOV. L'objectif est de déterminer si la relative complexité de BioLOV est justifiée par rapport à ces modèles.

Enfin la cinquième section (chapitre IX et conclusion) fait la synthèse des différents faits marquants observés lors des expérimentations et de ce qu'ils peuvent impliquer pour l'expérimentation et la modélisation. Un bilan des propriétés du modèle BioLOV est ensuite présenté et des perspectives de développement et d'application de ce modèle sont proposées.

CHAPITRE II

Environnements contrôlés et chémostats

Chapitre II

Environnements contrôlés et chémostats

I. INTRODUCTION.	19
II. DES ECOSYSTEMES EN LABORATOIRE.	19
III. METHODES ET PROPRIETES DES CULTURES DU PLANCTON.	22
III.1. CULTURES CONFINÉES.	22
III.2. CULTURES EN CONTINUE.	23
a) Principe du chémostat.	23
b) Notion de taux de dilution.	24
c) Le rôle de la concentration en substrat limitant Sin.	25
d) Cas des cultures faiblement renouvelées.	25
e) La dilution comme outil de sélection génétique.	25
III.3. VERS UN SIMULATEUR D'ENVIRONNEMENT MARIN PILOTE PAR ORDINATEUR.	26
a) L'équilibre, une situation peu représentative.	26
b) Vers un simulateur d'environnement marin piloté par ordinateur.	28

I. Introduction.

Les écologistes essaient de comprendre la complexité de la nature à l'aide d'expérimentations au laboratoire et de représentations théoriques, les modèles. Lors de ces expérimentations, les organismes sont placés dans des conditions artificielles permettant d'analyser leur réponse à la variation d'un ou plusieurs paramètres de leur environnement. Cette approche est longtemps restée caricaturale car elle ne tient pas compte de la variabilité naturelle du facteur étudié mais uniquement de l'intensité de celui-ci. Dans la nature, les organismes doivent non seulement répondre à l'intensité des facteurs mais également à leur variabilité temporelle qui induit une adaptation constante. Cette approche simplificatrice a longtemps été utilisée en raison de l'absence de moyens techniques adéquats. L'apparition de d'appareillages capables de réaliser des échantillonnages à haute fréquence ou de contrôler automatiquement les conditions expérimentales de façon programmée permet maintenant d'envisager des expériences où l'on peut imposer des variations aux paramètres du milieu de façon à mimer les conditions naturelles, et ce, éventuellement avec des « communautés biologiques » de plus en plus complexes.

II. Des écosystèmes en laboratoire.

Parallèlement au développement de ces nouveaux moyens expérimentaux, les changements climatiques ont incité les scientifiques à étudier comment les écosystèmes terrestres y répondaient. Il est pour cela nécessaire de connaître au préalable les acteurs biologiques et leurs interactions au sein de milieux naturellement complexes et caractérisés par une importante variabilité de leurs conditions physico-chimiques. Le travail de terrain constitue un moyen d'observation et de description de la structure d'un environnement. Cependant, il ne permet pas d'évaluer de façon précise les flux entrant et sortant, ni la réponse des organismes aux changements du milieu, ce qui nécessite un échantillonnage intensif, fréquent et prolongé des paramètres biologiques, physiques et chimiques. Si l'expérimentation en laboratoire permet de réaliser ce type de mesure, il est en revanche beaucoup plus difficile

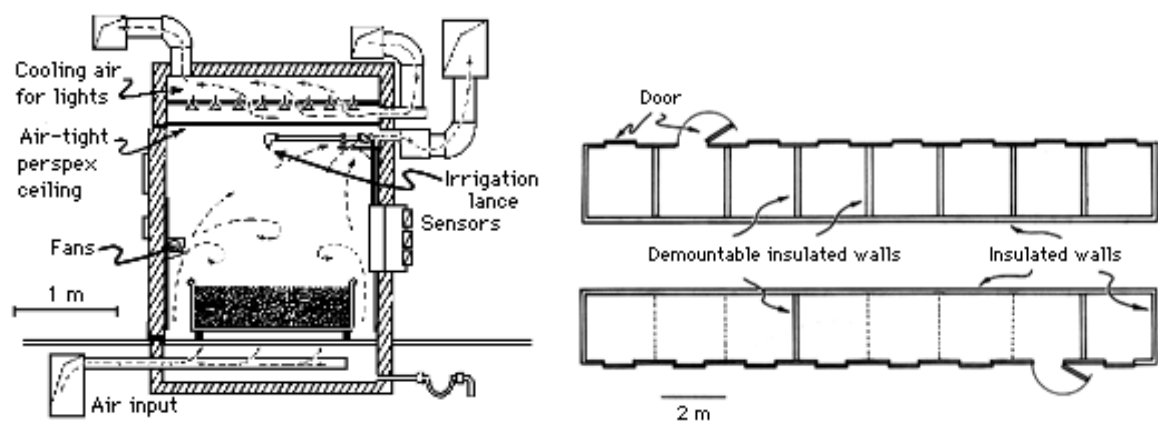


Figure II-1 : L'écotron est composé d'un ensemble de chambres où les entrées et les sorties sont contrôlées. Chaque chambre contient une communauté et peut être connectée à d'autres chambres. (*d'après* NERC Centre for Population Biology).

de réaliser un environnement artificiel proche des conditions réelles observées sur le terrain.

Dans le milieu marin, un problème supplémentaire réside dans le fait que les concentrations en phytoplancton sont parfois trop faibles pour permettre une étude fine des processus de la croissance. De ce fait, ce type d'étude n'est actuellement envisageable qu'avec des expériences en laboratoire mais pour cela, il est nécessaire d'utiliser des cultures où les algues sont concentrées par l'utilisation de milieux enrichis en sels nutritifs ce qui éloigne encore un peu plus les conditions de l'expérience de la réalité. Malgré ceci, ces cultures constituent l'approche privilégiée pour étudier la physiologie du phytoplancton. Elles bénéficient en effet du cadre expérimental du laboratoire qui offre la possibilité de tester des hypothèses, de mesurer précisément les flux entrant et sortant, et d'acquérir des données à haute fréquence sur des systèmes idéalisés, généralement des populations monospécifiques ou des maillons trophiques très simplifiés.

Un exemple d'approche intermédiaire entre l'observation *in situ* et les expériences en laboratoire a été proposée au début des années 1990 avec l'apparition des « écotrons » (Thompson *et al.*, 1993), écosystèmes artificiels terrestres en milieux semi-fermés où les entrées (c'est-à-dire les facteurs physiques, chimiques voire biologiques qui forcent le système) sont imposées et contrôlées par l'expérimentateur (figure II-1). Les sorties - les mesures - sont également analysées. Elles correspondent à ce qui est produit au final par l'écosystème (gaz, matière organique...). Le niveau de complexité biologique est fixé par l'expérimentateur. Le milieu est préparé de façon stérile afin que l'environnement expérimental ne soit pas contaminé par des organismes ou des composés qui pourraient interagir avec ou nuire aux organismes étudiés. Les expériences sont réalisées en continu à une échelle de temps proche de l'année. Ce dispositif présente de nombreux avantages (Lawton, 1996): 1) le cadre et les limites des hypothèses écologiques peuvent être testées, 2) il est possible de répondre à des questions qui nécessiteraient un travail trop difficile ou onéreux à réaliser sur le terrain, 3) l'évolution globale de l'écosystème peut être accélérée par rapport à un environnement naturel, 4) les expériences peuvent être répétées sans être influencées par les conditions climatiques du terrain, 5) les entrées, les sorties et les organismes peuvent être mesurés et contrôlés.

Les écotrons pourraient trouver avantageusement leur place dans l'étude du milieu marin : les campagnes océanographiques en mer sont onéreuses, ponctuelles, lourdes

logistiquement, dépendantes des conditions météorologiques et sont davantage orientées sur l'observation du milieu que sur l'expérimentation *in situ*, elle-même difficile à maîtriser et à suivre au cours du temps. Cependant, développer un dispositif équivalent pour le milieu marin est un défi technique complexe, car, contrairement à l'environnement terrestre, il est fortement structuré verticalement sur de grandes échelles avec des contraintes physico-chimiques (température, salinité, pression, courant, intensité lumineuse, spectre lumineux, advection et diffusion) dont la nature et la variabilité sont pour ainsi dire impossibles à recréer en laboratoire. Ce problème n'est pas insoluble si l'on tient compte du fait que le but n'est pas tant de créer une colonne d'eau, que d'en simuler expérimentalement les propriétés. Sur ce principe, il est possible, grâce à une programmation adéquate d'équipements capables de faire varier automatiquement les paramètres du milieu, de recréer la variabilité du milieu marin.

A défaut de disposer, pour l'instant, de systèmes similaires aux écotrons, des mésocosmes sont couramment utilisés pour recréer à moindre échelle des environnements marins. Ces dispositifs peuvent avoir un volume atteignant 10000 m³, et sont classiquement utilisés pour étudier certains aspects de l'écologie du plancton comme les effets des variations de paramètres chimiques (vitaux ou potentiellement toxiques) du milieu (e.g. Chen & Durbin, 1994; Escaravage *et al.*, 1996 ; Jacobsen *et al.*, 1995 ; Siron *et al.*, 1996), de la qualité de la lumière, notamment les ultra-violets (e.g. Fauchot *et al.*, 2000 ; Forster & Schubert, 2001), de la température (e.g. Agawin *et al.*, 2000 ; Keller *et al.*, 1999) ou la régulation de relations trophiques simples (e.g. Bertolo *et al.*, 2000 ; Nejstgaard *et al.*, 1994). Cependant, ces dispositifs ne sont pas très adaptés à l'étude des effets des processus physiques sur la production primaire. En effet, d'un côté l'utilisation d'enceintes de tailles modestes propices à des études physiologiques ne permet pas de représenter l'hydrodynamisme local dans la colonne d'eau; de l'autre, les mésocosmes de volumes importants où l'hydrodynamisme peut être un facteur significatif pour le milieu, sont difficiles à manipuler sans provoquer une contamination de l'enceinte par des organismes extérieurs indésirables.

Il se dégage donc deux difficultés majeures dans la création d'un environnement marin artificiel. D'une part, la variabilité des conditions physico-chimiques et leur représentation verticale sont difficiles à recréer expérimentalement. D'autre part, la concentration des organismes modifie les propriétés du milieu et peut affecter les conditions biologiques des cultures (atténuation excessive de la lumière, excrétion de composés par les cellules, etc). Ces problèmes sont relatifs à la disproportion entre les

échelles spatiales et temporelles des processus physiques qui peuvent être très grandes et celles des processus biologiques que l'on étudie généralement à l'échelle de la cellule ou de l'organisme.

Les écologistes marins, à défaut de pouvoir recréer ces écosystèmes, travaillent généralement sur les effets d'un paramètre du milieu sur des populations monospécifiques et sur le fonctionnement des maillons trophiques en réalisant des expériences simples. Les connaissances issues de ces expériences permettent ensuite, une fois regroupées, d'avancer des hypothèses sur le fonctionnement des écosystèmes. La suite de ce travail se focalisera sur les dispositifs qui permettent d'estimer la production primaire au sein des écosystèmes marins.

III. Méthodes et propriétés des cultures de phytoplancton.

III.1. Cultures confinées.

Une approche simple, classiquement utilisée en écophysiologie, consiste à faire croître des algues dans un milieu enrichi et maintenu isolé de l'extérieur. Ces cultures, dites fermées, présentent l'avantage d'être faciles à réaliser mais comportent de nombreux inconvénients :

- Les substrats du milieu s'épuisent au cours du temps ce qui modifie les conditions de croissance. Les produits de l'excrétion algale s'accumulent et peuvent devenir toxiques pour la population (Le Floch, 2002) .
- Les concentrations initiales en sels nutritifs et les densités algales en cours d'expérience sont souvent très supérieures à celles observées dans le milieu marin, mais cette condition est nécessaire pour avoir des concentrations mesurables par les instruments employés.
- L'épuisement du milieu étant proportionnel à la taille de la population, l'étude du système

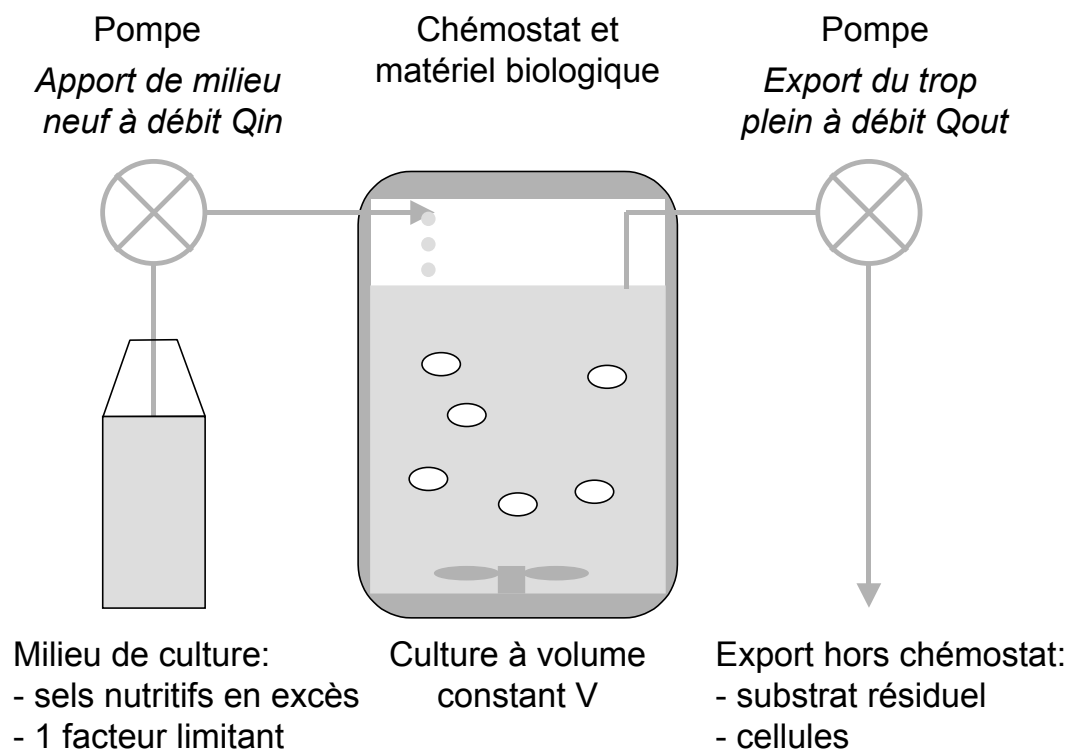


Figure II-2 : Schéma de principe du chémostat. Le milieu neuf est apporté grâce à une pompe en même temps que le trop plein est évacué. Pour que le volume de la culture reste constant, les débits entrant et sortant, respectivement Q_{in} et Q_{out} doivent être égaux. Le rapport entre le débit entrant et le volume de la culture est égal au taux de dilution d ($d=Q_{in}/V$) .

se réduit à trois phases :

- 1) celle où les sels nutritifs sont abondants et non limitants pour la croissance qui est alors exponentielle,
- 2) celle où les sels nutritifs atteignent des concentrations similaires aux teneurs océaniques qui sont limitantes pour la croissance. Cette phase correspond approximativement à la fin de la phase exponentielle,
- 3) une phase de plateau où le facteur limitant a disparu et où la densité de la population est maximale avant que la population de plus en plus carencée ne dégénère.

- L'absence de renouvellement de la culture restreint les possibilités d'échantillonnage.

III.2. Cultures en continue.

a) Principe du chémostat.

Il est possible de résoudre en partie les inconvénients des cultures fermées en travaillant avec un dispositif où le milieu est renouvelé en permanence, le chémostat. Il a été imaginé à peu près simultanément et indépendamment par Monod (1950) et Novick et Szilard (1950) pour l'étude de la croissance de bactéries. Les premiers à avoir utilisé ce type de dispositif pour étudier les effets de la lumière et du taux de dilution sur les algues furent Fujimoto *et al.* en 1956.

Le chémostat est une enceinte (figure II-2) alimentée continuellement en milieu de culture enrichi, et dont le volume est maintenu constant grâce à une évacuation également continue. Il est donc possible de réaliser au cours du temps des échantillonnages beaucoup plus nombreux que dans le cas d'une culture fermée sans que son volume n'en soit significativement modifié. Le milieu qui alimente le chémostat contient en excès tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance des organismes, excepté un, qui dosé à faible concentration (*Sin*) constitue le facteur limitant.

se réduit à trois phases :

- 1) celle où les sels nutritifs sont abondants et non limitants pour la croissance qui est alors exponentielle,
 - 2) celle où les sels nutritifs atteignent des concentrations similaires aux teneurs océaniques qui sont limitantes pour la croissance. Cette phase correspond approximativement à la fin de la phase exponentielle,
 - 3) une phase de plateau où le facteur limitant a disparu et où la densité de la population est maximale avant que la population de plus en plus carencée ne dégénère.
- L'absence de renouvellement de la culture restreint les possibilités d'échantillonnage.

III.2. Cultures en continue.

a) Principe du chémostat.

Il est possible de résoudre en partie les inconvénients des cultures fermées en travaillant avec un dispositif où le milieu est renouvelé en permanence, le chémostat. Il a été imaginé à peu près simultanément et indépendamment par Monod (1950) et Novick et Szilard (1950) pour l'étude de la croissance de bactéries. Les premiers à avoir utilisé ce type de dispositif pour étudier les effets de la lumière et du taux de dilution sur les algues furent Fujimoto *et al.* en 1956.

Le chémostat est une enceinte (figure II-2) alimentée continuellement en milieu de culture enrichi, et dont le volume est maintenu constant grâce à une évacuation également continue. Il est donc possible de réaliser au cours du temps des échantillonnages beaucoup plus nombreux que dans le cas d'une culture fermée sans que son volume n'en soit significativement modifié. Le milieu qui alimente le chémostat contient en excès tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance des organismes, excepté un, qui dosé à faible concentration (*Sin*) constitue le facteur limitant.

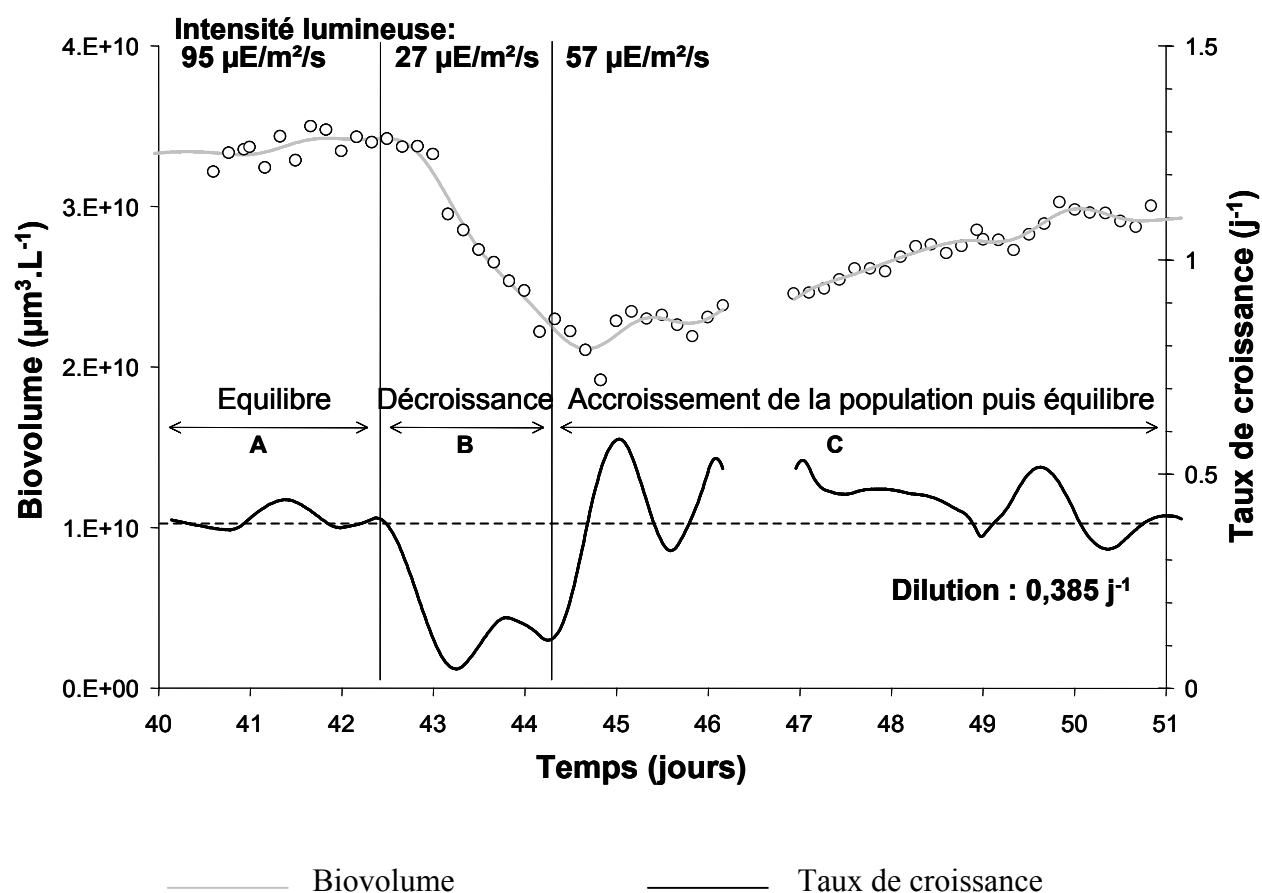


Figure II-3 : Passage d'une culture par différents états - équilibre, décroissance, croissance - par modification du régime lumineux (dilution constante).

Partie A: la culture est à l'équilibre, le taux de croissance est égal au taux de dilution et la biomasse est stable.

Partie B: la lumière a été réduite à un niveau qui entraîne une décroissance de la culture.

Partie C: le nouveau niveau d'intensité lumineuse instauré, conjugué à une disponibilité accrue en substrat résultant de la réduction du nombre de cellule, induit un taux de croissance supérieur au taux de dilution. Au cours du temps le taux de croissance tend vers la valeur du taux de dilution et la biomasse se stabilise progressivement.

b) Notion de taux de dilution.

Le taux de dilution est un paramètre expérimental important car il détermine à la fois l'apport en facteur limitant et l'export de cellules et de substrats nutritifs non consommés, dits résiduels. La densité de cellules résulte de la différence entre la croissance nette de la population et son évacuation partielle par le trop plein. Si l'on considère une culture pour laquelle les conditions de croissance sont susceptibles de varier, les différences entre taux de dilution et taux de croissance vont affecter la taille de la population positivement ou négativement. Afin d'illustrer les effets de la dilution, nous présentons ici 3 situations qui ont été rencontrées lors de nos expériences :

- *Le taux de dilution est très supérieur au taux de croissance effectif.* La quantité de biomasse évacuée est supérieure à la production et la population décroît (figure II-3, cas B). Cette situation n'est pas viable sur le long terme car la population est physiquement éliminée du chémostat. On parle **de lessivage** lorsque cette situation entraîne la disparition de la culture.
- *Le taux de dilution est inférieur au taux de croissance effectif.* La population s'accroît, ce qui s'accompagne d'une réduction de la disponibilité en substrat par cellule et donc par une réduction progressive du taux de croissance qui tend vers un nouvel état d'équilibre (voir le point suivant). Une telle situation, où le taux de croissance peut être supérieur au taux de dilution, est nécessairement transitoire. Elle résulte d'une amélioration passagère des conditions de croissance comme, par exemple, une injection de sels nutritifs limitant ou l'augmentation de l'éclairement (figure II-3 cas C). Par analogie, ce cas trouve son équivalent au cours des phases de croissance exponentielle des cultures fermées.
- *Le taux de dilution est égal au taux de croissance maximal.* On parle alors de culture à l'**équilibre**. Cet équilibre est atteint lorsque l'apport de facteur limitant équilibre les besoins requis par la population pour maintenir une croissance égale au taux de renouvellement de la culture. Dans cette situation, vers laquelle le système tend

naturellement, la biomasse renouvelée en permanence, n'évolue plus en terme de quantité, car ses pertes dues à la dilution sont exactement compensées par l'accroissement net de la population (figure II-3 cas A). Cette situation sera discutée dans la partie III.3.

c) Le rôle de la concentration en substrat limitant *Sin*.

La biomasse à l'équilibre dépend non seulement du taux de dilution, mais aussi de la concentration en substrat limitant *Sin*. L'expérimentateur peut ainsi ajuster la biomasse dans le chémostat, qui est proportionnelle à *Sin* à l'équilibre.

d) Cas des cultures faiblement renouvelées.

Sciandra et Ramani (1994) ont montré que, pour de faibles taux de renouvellement de milieu neuf par unité de biomasse, obtenus pour des valeurs de *Sin* élevées et/ou de dilutions faibles, les niveaux de culture mesurés à l'équilibre sont inférieurs à ceux que prédit le modèle de croissance de Droop (Burmester, 1979). Les causes de ces différences sont attribuables au fait que, dans ces conditions de culture faiblement renouvelées, le système ouvert qu'est le chémostat se rapproche d'un système fermé avec tous ses inconvénients: accumulation dans le milieu de produits d'excrétion par les algues potentiellement nocifs, mais qui peuvent également favoriser la production de bactéries compétitrices pour le facteur limitant, si la culture n'est pas parfaitement axénique.

e) La dilution comme outil de sélection génétique.

Le taux de dilution exerce une sélection au sein de la population de cellules. Au cours d'une expérience, la lignée la mieux adaptée aux conditions environnementales devient

dominante dans le chémostat. Cette propriété, observée expérimentalement par Droop (1974) et Veldkamp (1976), fait du chémostat un outil de sélection de souches largement utilisé en biotechnologie (pour la production de certains composés organiques comme les acides aminés). Par conséquent, s'il s'agit d'effectuer des expérimentations sur une population homogène dans le temps, il est nécessaire de limiter la sélection de lignées et l'apparition de propriétés phénotypiques particulières en cherchant à réaliser des expériences les plus courtes possibles.

III.3. Vers un simulateur d'environnement marin piloté par ordinateur.

a) L'équilibre, une situation peu représentative.

La possibilité d'atteindre une situation singulière d'équilibre dans un chémostat a constitué le cadre de nombreuses études, car elle permet de maintenir de façon viable une population de cellules à l'état stable pendant une durée bien plus longue que celle autorisée par l'utilisation des cultures fermées. Cet état stable permet l'acquisition répétée et prolongée d'un grand nombre de mesures de nature très variée au cours d'une même expérience. Cependant, selon Jannasch (1974), l'équilibre d'une culture nécessite 3 conditions qui incitent à penser que cette situation idéale, reste somme toute éloignée des conditions réelles de l'environnement:

- La première condition considère que l'organisme doit être capable de croissance exponentielle et ne doit être limité que par un *facteur unique* connu. Cette condition est rarement remplie dans le milieu marin où les facteurs de croissance sont le plus souvent *colimitants*, et agissent à des niveaux cellulaires différents, de façon simultanée et avec des intensités différentes. Pour remplir cette condition, l'expérimentateur place les cultures dans des conditions environnementales optimales excepté le paramètre dont on veut étudier l'effet sur les organismes.
- La seconde exigence implique une *stabilité* des conditions de croissance: éclairement,

température et disponibilité en substrat doivent rester constants. Dans le domaine océanique, c'est plutôt la *variabilité* de ces paramètres qui prédomine. Aucun d'entre eux ne reste constant suffisamment longtemps pour qu'un équilibre durable puisse être atteint.

- L'*homogénéité* de la culture est la troisième condition. Même à petite échelle, cette condition est rarement satisfaite dans le milieu marin. En effet, différents phénomènes physiques ou biologiques peuvent provoquer l'*agrégation* des cellules et favoriser ainsi l'exportation de matière organique en profondeur (Prieto *et al.*, 2002). Un de ces mécanismes est par exemple un phénomène de formation d'exudats à l'origine des TEP (*Transparent Exopolymeric Particles*) (Alldredge *et al.*, 1993). Ces TEPs, formées à partir de polysaccharides précurseurs issus essentiellement du phytoplancton, de matières colloïdales, constituent un vecteur ligand pour les particules marines qui deviennent agrégées, et ce à de très petite échelle. Néanmoins, les cultures étant sous agitation permanente, on fera par la suite l'hypothèse que le milieu est homogène.

En dépit du caractère peu réaliste des cultures à l'équilibre, cette approche constitue un cadre largement utilisé pour l'étude du phytoplancton. Cette situation a longtemps perduré parce qu'il n'existait pas de dispositifs capables de faire varier de façon réaliste les conditions environnementales. **La relative facilité avec laquelle il est possible d'obtenir un état stable et les avantages qui en découlent ont fait paradoxalement d'une situation singulière, une situation de quasi-référence pour étudier les réponses de la croissance à différentes conditions. Par extension, on considère généralement que ces réponses restent inchangées dans des environnements marins où les conditions varient perpétuellement. De ce fait, les données expérimentales acquises à l'équilibre constituent couramment la matière première pour construire et valider des modèles destinés à être appliqués au milieu marin.**

On peut donc penser que l'application de modèles développés et identifiés à l'état stable au contraire des systèmes caractérisés par une forte variabilité dynamique peut induire des biais que seules des expériences réalisées sous conditions variables peuvent permettre d'estimer.

b) Vers un simulateur d'environnement marin piloté par ordinateur.

Un dispositif expérimental destiné à recréer la variabilité des conditions de l'environnement marin doit donc prendre en compte la dynamique des conditions environnementales qui prévalent dans la colonne d'eau. Cependant, il est matériellement très difficile, voire impossible de recréer une colonne d'eau de taille pertinente pour l'étude des mécanismes liés à la croissance du phytoplancton. Néanmoins, ce problème se simplifie si l'on considère le mouvement des cellules selon des points de vue eulériens et lagrangiens.

D'un point de vue **eulérien**, le dispositif expérimental doit permettre le déplacement des cellules dans des environnements où les conditions du milieu sont différentes. Comme le chémostat est un milieu supposé homogène, ce type d'approche nécessiterait un dispositif composé de plusieurs chémostats soumis à des conditions différentes (figure II-4). Ce système expérimental présente l'avantage de matérialiser, par exemple, des niveaux individualisés au sein d'une colonne d'eau et les échanges entre ces niveaux. Cependant, ce dispositif est complexe à réaliser, car il nécessite beaucoup de chémostats, ainsi que de systèmes de mesure et de contrôle associés. Il implique également de considérer des éléments discrets de la colonne d'eau, ce qui peut constituer une situation caricaturale.

La **conception lagrangienne** considère l'évolution de l'environnement que la cellule perçoit au cours de son déplacement (figure II-5) dans la colonne d'eau. Selon cette approche, le contenu du chémostat ne représente pas un volume particulier de la colonne d'eau, mais une population de cellules soumises à des phénomènes d'advection et de diffusion. En faisant varier continuellement des paramètres comme l'éclairement ou l'enrichissement du milieu, on peut ainsi "simuler" le déplacement de la population dans la colonne d'eau. Cette approche présente l'inconvénient de faire intervenir la notion de trajectoires de cellules qui sont extrêmement difficiles à déterminer, soit par des mesures directes en mer, soit à l'aide de modèles hydrodynamiques. Malgré ceci, la conception lagrangienne présente l'avantage de ne nécessiter qu'un seul dispositif expérimental: les forçages appliqués aux cultures sont programmés pour reproduire les conditions de croissance rencontrées par les cellules au cours de leurs déplacement dans la colonne d'eau.

Cette seconde approche a été retenue pour développer au Laboratoire d'Océanographie

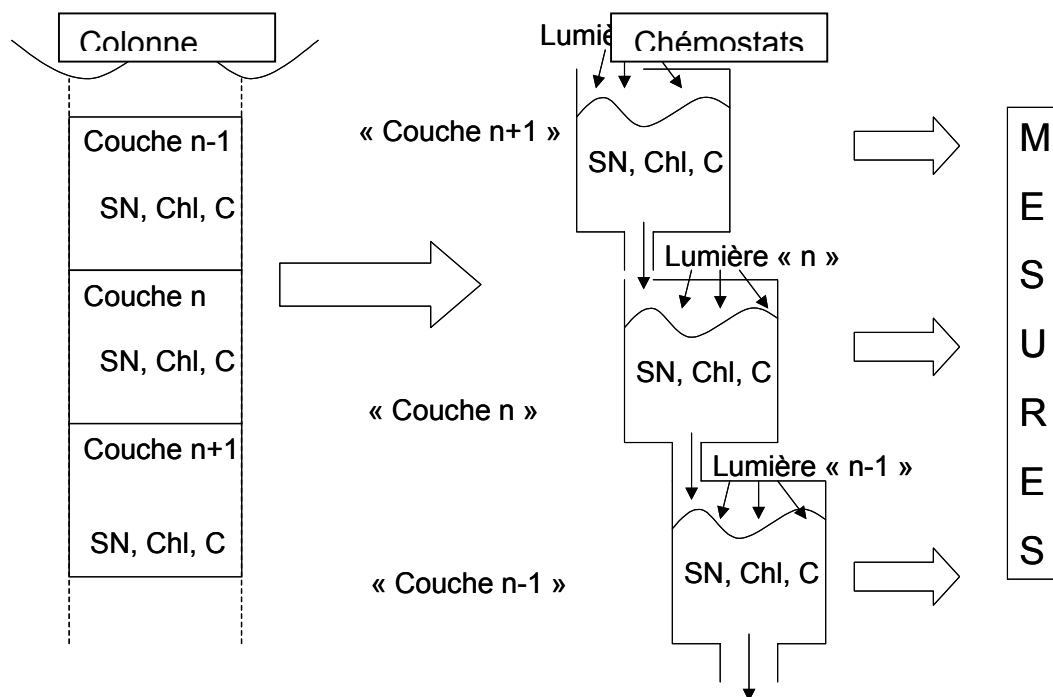


Figure II-4 : Schéma de principe d'un système expérimental représentant une colonne d'eau hétérogène selon une approche Eulérienne avec des chimostats reliés en série. Chaque chimostat représente une couche de la colonne d'eau avec un niveau d'intensité lumineuse différent. Dans cette configuration, les mesures de sels nutritifs (SN), carbone particulaire (C) et de chlorophylle (Chl) devraient être réalisées dans chaque chimostat.

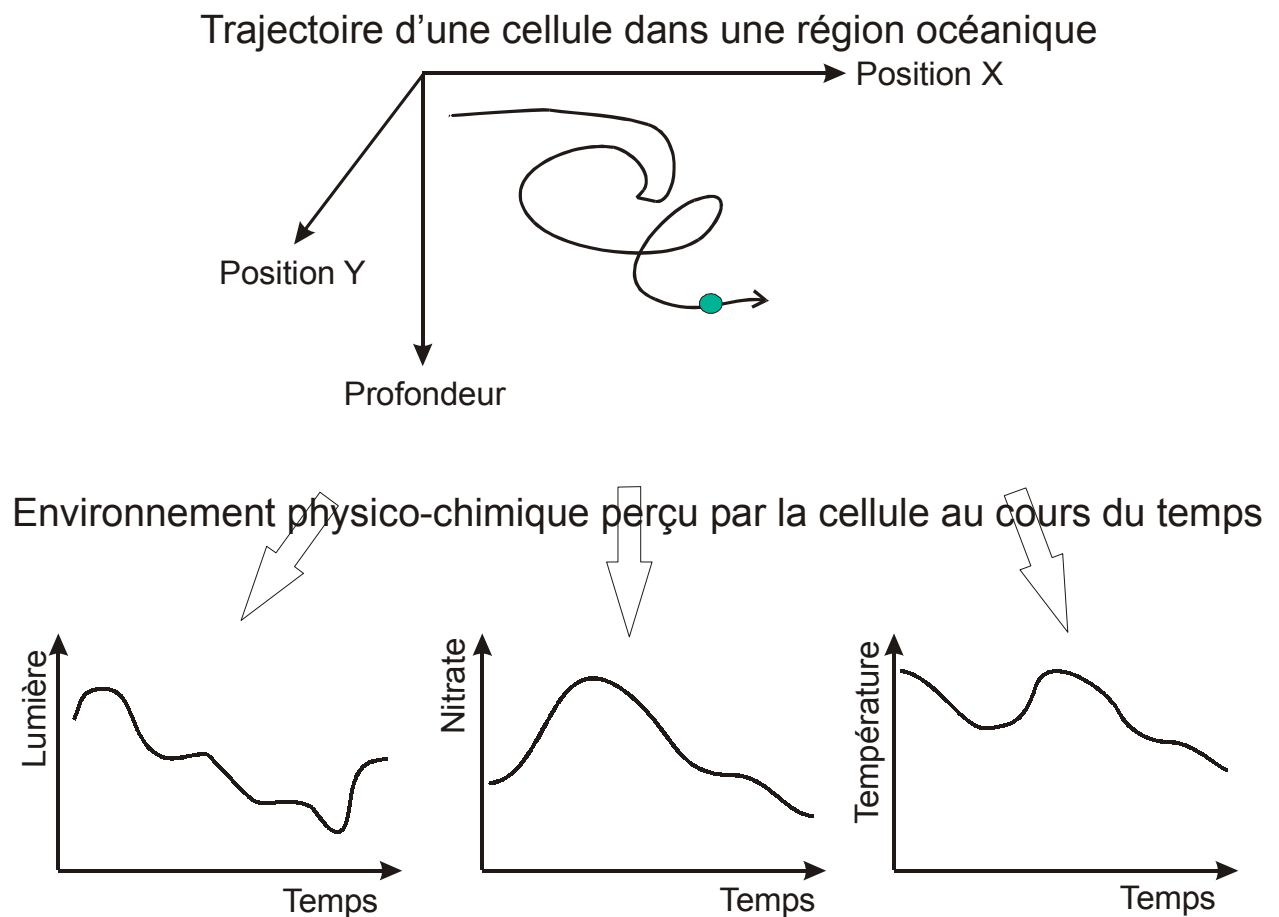


Figure II-5 : Description lagrangienne de la position d'une cellule dans une colonne d'eau. La cellule se déplace dans un espace à 3 dimensions où les conditions physico-chimiques varient spatio-temporellement. L'approche lagrangienne consiste à représenter l'évolution temporelle des paramètres de l'environnement perçue par la cellule au cours de son déplacement.

b) Vers un simulateur d'environnement marin piloté par ordinateur.

Un dispositif expérimental destiné à recréer la variabilité des conditions de l'environnement marin doit donc prendre en compte la dynamique des conditions environnementales qui prévalent dans la colonne d'eau. Cependant, il est matériellement très difficile, voire impossible de recréer une colonne d'eau de taille pertinente pour l'étude des mécanismes liés à la croissance du phytoplancton. Néanmoins, ce problème se simplifie si l'on considère le mouvement des cellules selon des points de vue eulériens et lagrangiens.

D'un point de vue **eulérien**, le dispositif expérimental doit permettre le déplacement des cellules dans des environnements où les conditions du milieu sont différentes. Comme le chémostat est un milieu supposé homogène, ce type d'approche nécessiterait un dispositif composé de plusieurs chémostats soumis à des conditions différentes (figure II-4). Ce système expérimental présente l'avantage de matérialiser, par exemple, des niveaux individualisés au sein d'une colonne d'eau et les échanges entre ces niveaux. Cependant, ce dispositif est complexe à réaliser, car il nécessite beaucoup de chémostats, ainsi que de systèmes de mesure et de contrôle associés. Il implique également de considérer des éléments discrets de la colonne d'eau, ce qui peut constituer une situation caricaturale.

La **conception lagrangienne** considère l'évolution de l'environnement que la cellule perçoit au cours de son déplacement (figure II-5) dans la colonne d'eau. Selon cette approche, le contenu du chémostat ne représente pas un volume particulier de la colonne d'eau, mais une population de cellules soumises à des phénomènes d'advection et de diffusion. En faisant varier continuellement des paramètres comme l'éclairement ou l'enrichissement du milieu, on peut ainsi "simuler" le déplacement de la population dans la colonne d'eau. Cette approche présente l'inconvénient de faire intervenir la notion de trajectoires de cellules qui sont extrêmement difficiles à déterminer, soit par des mesures directes en mer, soit à l'aide de modèles hydrodynamiques. Malgré ceci, la conception lagrangienne présente l'avantage de ne nécessiter qu'un seul dispositif expérimental: les forçages appliqués aux cultures sont programmés pour reproduire les conditions de croissance rencontrées par les cellules au cours de leurs déplacement dans la colonne d'eau.

Cette seconde approche a été retenue pour développer au Laboratoire d'Océanographie

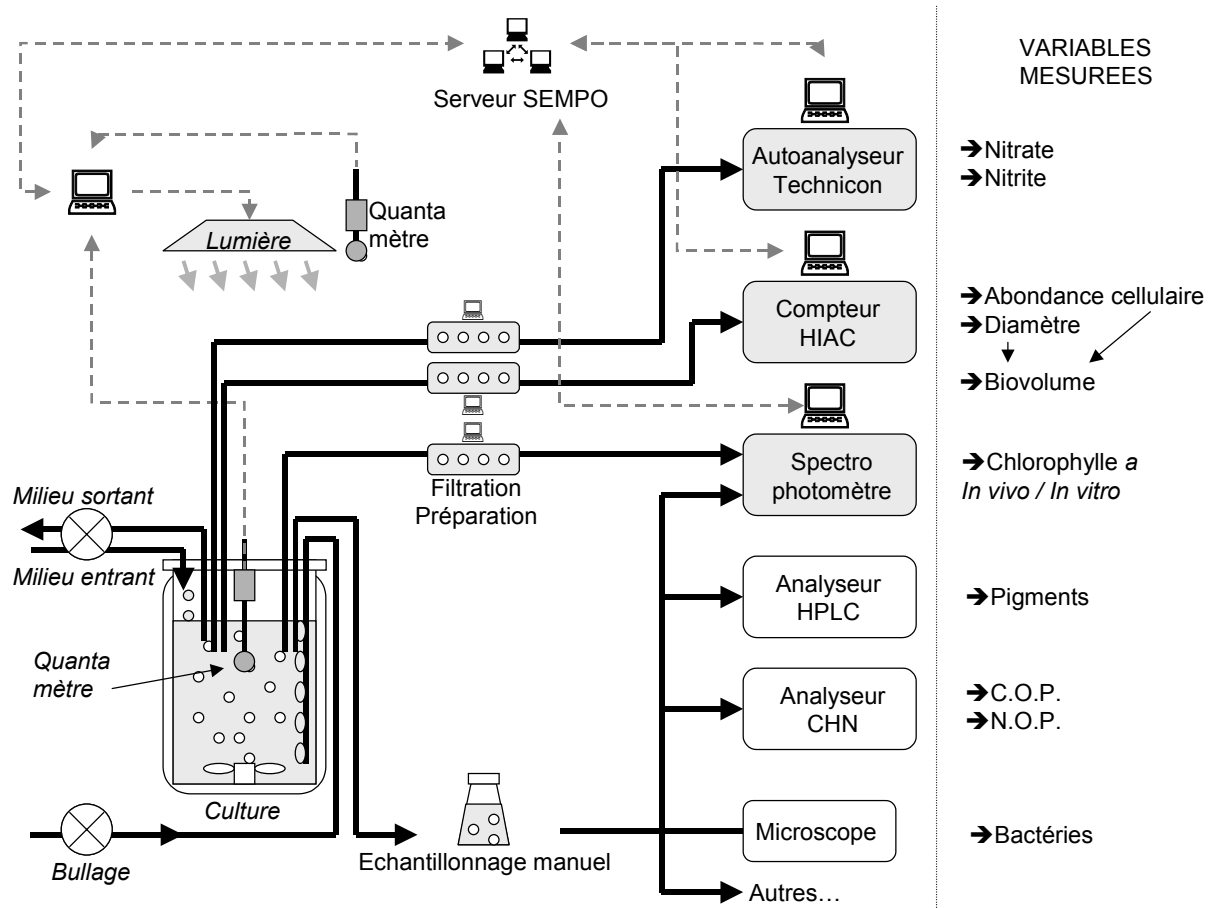


Figure II-6 : Schéma de principe du simulateur d'Environnement Marin Piloté par Ordinateur. Les flèches noires symbolisent les mouvements des fluides (culture, milieu neuf, air) vers les différents appareillages. Certains appareils (HIAC, spectrophotomètre, Technicon) nécessite une préparation automatique préalable de l'échantillon (filtration, dilution, rinçage de l'appareil). Les traits en pointillés symbolisent les échanges d'informations entre les différents automates.

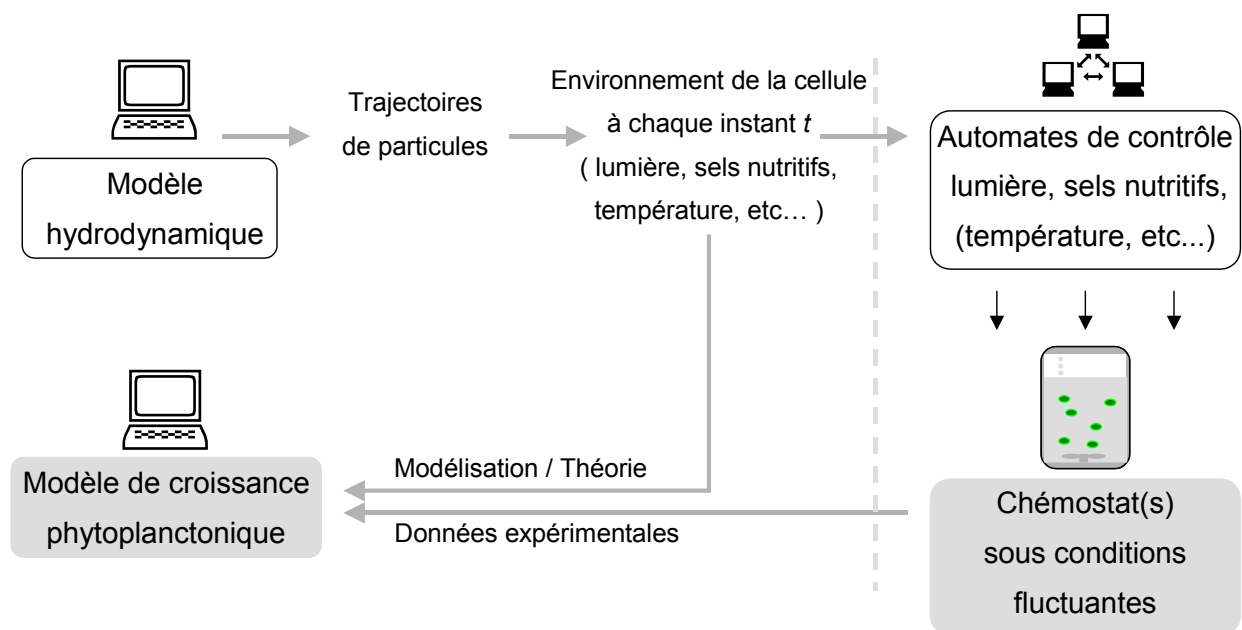


Figure II-7 : Synergie d’une démarche parallèle de modélisation et d’expérimentation autour du Simulateur d’Environnement Marin Piloté par Ordinateur dans le cadre de l’étude de la croissance du phytoplancton en environnement variable.

de Villefranche sur Mer le SEMPO (Simulateur d'Environnement Marin Piloté par Ordinateur). Ce dispositif (figure II-6), dont les éléments seront détaillés dans le chapitre suivant, est composé d'un réseau d'ordinateurs permettant de gérer d'une part des d'automates contrôlant les conditions variables de lumière, de substrat et de dilution, et d'autre part des appareils d'analyse réalisant de façon autonome la mesure de certaines variables forçantes et d'état de la culture. Les données recueillies sont ensuite rassemblées sur un serveur.

Ce dispositif permet l'acquisition de données à haute fréquence au sein d'un environnement dont les caractéristiques et l'évolution sont programmées par l'expérimentateur. La flexibilité du système permet de recréer des situations types, soit à partir de données issues de campagnes à la mer, soit à partir de cas théoriques destinées à mettre en avant ou à tester des hypothèses sur certains processus biologiques. Ce système permet de tester en temps réel l'effet des forçages d'un modèle physique sur la croissance phytoplanctonique, puis de comparer ces observations aux propriétés théoriques issues de modèles biologiques contraints par ces mêmes forçages (figure II-7). Bien que ce dispositif soit encore en développement, ces différentes approches ont été mises en œuvre pour la présente étude.

CHAPITRE III
Matériel et Méthodes

Chapitre III

Matériel et méthodes

I. INTRODUCTION.	32
II. <i>THALASSIOSIRA WEISSFLOGII</i>.	32
III. CONTROLE DE L'ENVIRONNEMENT PHYSICO-CHIMIQUE ET DES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DE LA CULTURE.	33
III.1. COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURES	33
III.2. RENOUVELLEMENT ET HOMOGENEISATION DES CULTURES.....	34
III.3. CONTROLE DE L'INTENSITE LUMINEUSE.	34
III.4. BULLAGE.....	35
III.5. TEMPERATURE.....	36
III.6. AXENICITE.....	36
IV. MESURES REALISEES.	37
IV.1. NITRATE ET NITRITE.	37
IV.2. COMPTAGE OPTIQUE DE LA POPULATION PHYTOPLANCTONIQUE.	38
IV.3. CARBONE ET AZOTE PARTICULAIRES.	40
IV.4. PIGMENTS.....	40
a) <i>Dosages in vitro de la chlorophylle a et des pigments.</i>	40
b) <i>Détermination in vivo de la chlorophylle a.</i>	41

I. Introduction.

Ce chapitre présente l'ensemble des dispositifs utilisés lors des expériences présentées dans ce document. Dans le chapitre précédent consacré aux environnements contrôlés, nous avons déjà présenté une vue d'ensemble du dispositif destiné à recréer certaines propriétés physico-chimiques du milieu marin. Nous détaillons ici les différents appareils et méthodes de mesures employés lors de nos expérimentations.

II. *Thalassiosira weissflogii*.

L'espèce utilisée durant cette étude, *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) (Fryxell & Hasle, 1979), appartient à la classe des coscinodiscophyceae (diatomée). La souche (CCMP1053), fournie par le Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP - Bigelow Laboratory for Ocean Science, états-unis) est entretenue stérilement au laboratoire dans des erlens contenant un milieu F/2 (Guillard, 1975 ; Guillard et Ryther, 1962), à 17°C sous lumière continue. Une seconde souche a été fournie ultérieurement par l'AVCR - Laboratory of Photosynthesis (Institute of Microbiology, Trebon, République Tchèque) car il était nécessaire pour réaliser la première expérience du projet APPLE, d'utiliser des marqueurs biomoléculaires mis au point pour cette souche.

Les souches utilisées présentent une structure d'aspect cylindrique de 6 à 15 µm de longueur et 6 µm de largeur. Les mesures réalisées à l'aide du compteur optique de particules HIAC donnent un diamètre sphérique équivalent de 10 à 15 µm, comparable aux indications fournies.

III. Contrôle de l'environnement physico-chimique et des caractéristiques biologiques de la culture.

Ce chapitre détaille la façon dont est contrôlé l'environnement des cellules et par conséquent leur croissance. Le terme «contrôle» s'applique à la surveillance en temps réel des caractéristiques du milieu suivant une consigne programmée à l'avance pour les expériences.

III.1. Composition des milieux de cultures

Les milieux de culture sont réalisés à partir d'eau de mer pompée à 1m de profondeur à la sortie de la rade de Villefranche sur Mer (Point B) et une préparation F/2 (Guillard & Ryther, 1962, Guillard, 1975) avec une concentration en nitrate ajustée selon les besoins de l'expérience. Dans un premier temps, l'eau est filtrée sur une cartouche Millipore de 1 μm puis stockée plusieurs semaines dans des bidons de 60 L en polyéthylène. Lors de la préparation d'une nouvelle expérience, l'eau de mer est à nouveau filtrée sur 0,22 μm , puis autoclavée (120°C pendant 30 minutes) dans des bidons Nalgène en polycarbonate de 20 L, lesquels refroidissent ensuite pendant plusieurs jours ce qui permet au milieu de s'équilibrer avec la pression partielle de CO_2 atmosphérique. Les bidons sont protégés d'une contamination bactérienne grâce à des filtres à air Millipore Hepavent placés au niveau des bouchons.

Le milieu F/2 et le nitrate sont rajoutés stérilement à l'aide d'une seringue, une aiguille et un filtre seringue stérile (Corning SFCA de porosité 0,25 μm). Les bonbonnes sont utilisées par séries de 5, pour le remplissage initial des chémostats puis comme réserve de milieu pour le maintien des cultures durant les expériences.

Pour contrôler que la concentration en nitrate dans le milieu d'enrichissement n'évolue pas au cours du temps, un dosage est effectué lors de la mise en place de nouveaux bidons, lorsqu'ils sont à mi-volume et lorsqu'ils sont presque vides.

III.2. Renouvellement et homogénéisation des cultures.

Les flux entrant et sortant des chimostats sont assurés par des pompes péristaltiques de précision (Gilson) dont le débit, mesuré par pesée, est ajusté en fonction du taux de dilution souhaité. L'usure des tubes de pompes péristaltiques peut entraîner une dérive du débit, ce qui nécessite un contrôle régulier de celui-ci, réalisé manuellement. Le milieu arrive dans le chimostat par une canule en verre située à quelques centimètres au-dessus de la surface, et tombe dans la culture au goutte à goutte. Les pompes péristaltiques assurent également l'évacuation du trop plein de la culture via un tube affleurant sa surface.

L'homogénéité de la culture est assurée par un barreau aimanté en téflon et un agitateur magnétique placé sous chaque chimostat. Un film composé de cellules et de matière organique a néanmoins pu se déposer au cours des expériences sur les canules, le barreau aimanté, les parois du chimostat, et se développer également à la surface de la culture, ce qui a régulièrement requis une remise en suspension par agitation des enceintes. En effet, des tests ont montré que ce dépôt pouvait biaiser les mesures d'absorption, ainsi que le dénombrement des cellules.

Nous considérons que les effets de l'agitation sont négligeables sur la physiologie des cellules bien que certaines espèces présentent une sensibilité à la turbulence (Thomas & Gibson, 1990).

III.3. Contrôle de l'intensité lumineuse.

Le contrôle de l'intensité lumineuse est un des aspects les plus critiques et déterminants pour le bon déroulement des expériences, dans la mesure où la quantité de lumière reçue par les algues dépend à la fois de l'intensité des sources lumineuses, de la configuration spatiale des chimostats, et également de la concentration alguale. Pour le besoin de l'étude, il est nécessaire de connaître en permanence le flux de photons reçu par les algues, mais également de pouvoir imposer une intensité lumineuse particulière à un moment donné.

L'éclairage est constitué de deux rampes placées de part et d'autre de l'espace de travail, composées chacune de 6 néons Dulux (OSRAM) de 55W. L'état allumé ou éteint, et

l'intensité de chaque néon est assurée par un ballast Quicktronic (OSRAM). Il possède une entrée analogique en tension (0-10V) qui permet de moduler l'allumage et l'intensité du néon, via la tension envoyée par un ordinateur équipé d'une carte à plusieurs entrées/sorties analogiques. Un programme développé au sein du laboratoire pilote la carte de façon transparente pour l'utilisateur, ce qui lui permet de travailler selon trois configurations : en lumière constante, en cycle jour/nuit avec un signal en cloche, ou à l'aide d'un fichier qui programme l'intensité lumineuse au cours du temps. Cette troisième option offre la possibilité de simuler des données issues du terrain, ou bien des sorties de modèle décrivant la trajectoire des cellules dans une colonne d'eau.

L'ordinateur est également connecté à deux quantamètres sphériques 2π (QSL-100 et QSL-2100, Biospherical Instruments Inc). L'un est fixé de façon permanente au centre de l'espace expérimental, et sert à contrôler une éventuelle dérive des lampes. Le second est plongé successivement au cours du temps dans chaque chémostat, ce qui permet ainsi de connaître le flux lumineux reçu dans chaque culture soit par mesure directe, soit par interpolation à partir de l'enregistrement du quantamètre qui reste à l'air libre.

Le champ lumineux peut varier d'une expérience à l'autre suivant le nombre de chémostats utilisés et leur volume. Nous réalisons donc un étalonnage en début d'expérience : sur un cycle, le programme établit la correspondance entre la tension (0-10V) envoyée dans les ballasts et l'intensité lumineuse reçue au centre d'un chémostat rempli de milieu. Le système permet d'atteindre une intensité de l'ordre de $1500 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ au centre d'un espace comportant quatre chémostats.

III.4. Bullage.

Le bullage d'air permet de maintenir la pression partielle de CO_2 (pCO_2) et donc le pH de la culture à des valeurs qui n'excède pas trop les niveaux standards de l'eau de mer naturelle (c'est à dire environ 8,20). Le Floc'h (2002) souligne que dans les milieux neufs récemment autoclavés, la pCO_2 est généralement très élevée ce qui impose de laisser les milieux reposer plusieurs jours avant leur utilisation. L'air est débarrassé des composés organiques et des particules par l'utilisation d'une cartouche de charbon actif (Carbon Cap) et

d'une cartouche de filtration de 0,3 μm (Gamma Whatman). L'évacuation des gaz hors des chémostats est réalisée à travers un filtre Hepa-Vent.

III.5. Température

Les chémostats comportent une double paroi permettant la circulation de l'eau désionisée et thermostatée à $17^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ au moyen deux cryostats indépendants.

III.6. Axénicité

Les souches algales sont repiquées régulièrement en conditions axéniques. Toutes les parties hydrauliques des appareillages et des chémostats sont changées à chaque expérience et rincées à l'acide chlorhydrique 10%. Les chémostats sont complètement remplis d'acide avant le début de l'expérience, puis rincés avec le milieu de culture préparé afin d'en éliminer les traces d'acide avant le remplissage final du chémostat. Le pH doit être comparable à celui de l'eau de mer (8,2) au début de l'expérience.

Le phytoplancton et les bactéries présentent des relations complexes pouvant aller de la symbiose au parasitisme (Le Floch, 2002). Les cultures faiblement renouvelées peuvent être le siège d'une compétition entre phytoplancton et bactéries (Sciandra & Ramani, 1994). Des comptages bactériens (DAPI) et une observation au microscope permettent de s'assurer de l'état des algues et de la présence éventuelle de bactéries. Les différences entre les mesures de nitrate dans les bidons de milieu neuf et les mesures d'azote particulières dans les cultures peuvent également servir d'indices quant à une compétition entre microalgues et bactéries.

IV. Mesures réalisées.

Le dispositif de culture présente la particularité d'automatiser certaines mesures. Le développement d'automates pilotés par ordinateur a été initié depuis de nombreuses années au sein de l'équipe (Malara & Sciandra, 1991 ; Bernard, 1995 ; Le Floch, 2002), et se poursuit actuellement dans le cadre du projet de *Simulateur d'Environnement Marin Piloté par Ordinateur* (SEMPO). Ce projet m'a permis de participer au développement d'un serveur informatique (Prévost & Beuzet, 2003) dédié au pilotage centralisé des automates et au stockage des données. Mon rôle a essentiellement été de réfléchir aux problèmes d'accès et de pilotage à distance des automates, d'interprétation des fichiers de données, de l'ergonomie de l'interface du dispositif, et sur des questions de programmation.

Les automates permettent de réaliser certaines mesures à haute fréquence dans la limite de la maintenance à réaliser (changements de filtres, réactifs, etc.) et des volumes prélevés par rapport au renouvellement de la culture. Il s'agit des nitrate, nitrite, des spectres d'absorption, ainsi que le comptage des particules. D'autres prélèvements sont manuels et concernent les mesures de carbone et d'azote particuliers, et de fluorescence. L'important volume nécessaire aux mesures manuelles ainsi que les contraintes de présence imposées à l'expérimentateur restreignent les fréquences des mesures automatiques. Les échantillons de culture sont prélevés de façon à éviter les risques de contaminations bactériennes au moyen de canules de verre plongées de façon permanente dans les chémostats et terminées par des clapets empêchant un retour du fluide vers les cultures.

IV.1. Nitrate et nitrite.

Les nitrates et nitrites sont dosés au moyen d'une chaîne d'analyse Technicon. Le dosage du nitrite repose sur la méthode de Benshneider et Robinson (1952) : le nitrite est transformé par diazotation avec du sulfanilamide et addition de N-1-naphtyléthylène-diamine en un complexe diazoïque donnant à la solution une couleur rose dont l'intensité est mesurée

au moyen d'un colorimètre. Le dosage du nitrate est réalisé après sa réduction en nitrite par une colonne de cadmium-cuivre selon le protocole de Wood *et al.* (1967).

La mesure est entièrement automatisée et pilotée par un ordinateur. Le programme gère à la fois le pompage, la filtration des échantillons, les cycles de rinçages de la chaîne d'analyse, l'étalonnage du dispositif, le passage des échantillons et l'enregistrement des résultats. Les échantillons sont dans un premier temps débarrassés des cellules via deux rampes de 8 filtres en fibres de verre Gelman A/E de 13 mm de diamètre sur support Millipore Swinnex précédés chacun par une électrovanne. L'ordinateur gère l'activation des électrovannes selon le nombre de passage par filtre afin d'éviter leur colmatage. L'échantillon est au besoin dilué 10 fois, la chaîne ne pouvant doser linéairement que des concentrations inférieures à 5 $\mu\text{atg.L}^{-1}$. Une phase d'étalonnage permet de déterminer le gain des colorimètres et l'efficacité de la colonne de réduction nitrate/nitrite. Connaissant ces paramètres, les concentrations des échantillons sont automatiquement calculées lors de leurs passages et stockées dans un fichier.

IV.2. Comptage optique de la population phytoplanctonique.

Le comptage des cellules et la mesure de leur diamètre sont assurés par un compteur optique HIAC 9700 (Pacific Scientific Instruments) et un automate dilueur. Le principe de cette mesure repose sur le passage des particules une à une à travers un faisceau laser. L'ombre projetée des particules est mesurée par un capteur, donnant ainsi des informations sur le nombre et la section efficace des cellules. Les résultats sont fournis sous forme de spectres d'abondance selon différentes classes de tailles, réparties entre 1,6 μm et 30 μm . En début d'expérience, des mesures complémentaires sont réalisées manuellement avec une cellule de Lemaire sous microscope. En effet, afin de ne pas saturer l'appareil, l'échantillon doit contenir moins de 10000 à 12000 particules par millilitre. Avant chaque comptage, les échantillons sont dilués par un automate (basé sur seringue montée sur un piston électrique). L'automate assure le choix du chémostat, la dilution de l'échantillon, le remplissage et la vidange du bécher de mesure du HIAC. Un cycle de mesure comporte deux blancs réalisés à partir d'eau de mer filtrée, quatre réplicats «dilués» par chémostat, un rinçage à l'acide et un rinçage final à l'eau distillée.

Le nombre N de particules contenues dans un volume V pour un groupe de classes numérotées de i_{inf} et i_{sup} se définit par la formule suivante :

$$N = \frac{1}{V} \sum_{i=i_{inf}}^{i_{sup}} n_i \quad (\text{III.1})$$

où n_i est le nombre de particules dans la classe i . Le diamètre moyen D s'exprime selon la relation suivante :

$$D = \frac{1}{N} \sum_{i=i_{inf}}^{i_{sup}} \overline{d}_i \cdot n_i \quad (\text{III.2}) \quad \text{avec} \quad \overline{d}_i = \frac{d_i + d_{i+1}}{2} \quad (\text{III.3})$$

$\overline{d}_i$ est le diamètre moyen de la classe de taille i qui contient les particules comprises entre d_i et d_{i+1} .

Le calcul du biovolume (III.4) nécessite de calculer au préalable les volumes sphériques équivalents moyens (III.5) pour chaque classe concernée (III.4) :

$$B = \frac{1}{V} \sum_{i=i_{inf}}^{i_{sup}} \overline{v}_i \cdot n_i \quad (\text{III.4}) \quad \text{avec} \quad \overline{v}_i = \pi \frac{\overline{d}_i^3}{6} \quad (\text{III.5})$$

Le biovolume est le produit du nombre et du volume des cellules. Il peut être considéré comme un indicateur de la biomasse. En comparant les données de biovolume avec les mesures de carbone particulaire, il apparaît une relation linéaire entre ces grandeurs (Sciandra *et al.*, 1997). Par conséquent, sous réserve d'avoir mis en évidence ce type de relation, le biovolume peut servir d'estimateur de la quantité de carbone particulaire présente dans la culture.

Bien que simples, ces calculs se révéleraient vite fastidieux compte tenu de la quantité des données. Les fichiers sont transformés dans un format exploitable au moyen d'une macrocommande écrite en *Visual Basic for Applications* et fonctionnant sous Excel (Microsoft). Les séries temporelles obtenues font également l'objet de lissages (TableCurve

2D, AISN Software).

IV.3. Carbone et azote particuliers.

Le carbone (COP) et l'azote organiques particuliers (NOP) sont déterminées manuellement. Des triplicats de 25 à 50 ml de culture sont filtrés sur filtres GF/C (Whatman) préalablement placés au four à 400°C pendant 10 heures. Les échantillons sont ensuite placés à l'étuve à 60°C jusqu'à leur analyse grâce à un analyseur Leco 900 CHN.

IV.4. Pigments.

Différentes méthodes automatiques ou manuelles ont été utilisées pour le dosage des pigments, et en particulier de la chlorophylle *a*. Ces dosages sont délicats en raison de la rapide dégradation des pigments à l'air libre. Au moins deux méthodes ont été mises en œuvre pour s'assurer de la validité des mesures.

a) Dosages *in vitro* de la chlorophylle *a* et des pigments.

Les mesures manuelles nécessite la filtration en triplicats de 25 à 50 ml de culture sur filtres GF/C (Whatman). Les échantillons placés dans des tubes Nalgene sont immédiatement plongés dans l'azote liquide à -180°C puis stockés dans un congélateur à -80°C. Deux méthodes de dosage ont pu être utilisées :

1. la *méthode trichromatique* repose sur un calcul de la concentration en chlorophylle *a* à partir des absorbances mesurées à trois longueurs d'onde différentes. Les échantillons,

préalablement placés à l'obscurité, sont ultrasonifiés dans 7 ml d'acétone à 90% puis reposent pendant quelques minutes à l'obscurité. Ils sont ensuite centrifugés à 3500 tour.min⁻¹ pendant 5 min. Le spectrophotomètre utilisé est un modèle Perkin Elmer à double faisceau, la cuve de référence étant remplie d'une solution d'acétone à 90%. Le logiciel enregistre dans un fichier les différentes longueurs d'onde nécessaires à l'estimation de la concentration en chlorophylle. Celle-ci se déduit ensuite de l'équation de Jeffrey et Humphrey (1975) en tenant compte du volume d'acétone v et du volume de culture filtrée V :

$$[Chla] = \frac{(11,85 \cdot DO_{663-665} - 1,54 \cdot DO_{647} - 0,08 \cdot DO_{630}) \cdot v}{V} \quad (III.6)$$

2. la quantification des pigments par dosage HPLC¹ repose sur une procédure décrite par Vidussi *et al.* (1996). Les échantillons sont extraits à l'obscurité pendant 30 minutes dans 3 ml de solution à -20°C de méthanol et d'un standard interne pour l'appareillage, le β -apo-8'-carotenal (trans). Les échantillons sont ensuite broyés par ultrasonification pendant quelques secondes puis recongelés à l'obscurité pendant 30 minutes. Ils sont ensuite clarifiés par filtration (GF/C Whatman) et le filtrat peut être ensuite analysé par l'appareil.

b) Détermination *in vivo* de la chlorophylle *a*.

Le dosage des pigments *in vivo* ne peut être réalisé directement par une mesure d'absorption, car les pigments ne sont pas répartis de façon homogène dans la culture mais regroupés dans les cellules. Cette différence est appelée dans la littérature « package effect » (Duysens, 1956 ; Kirk, 1975a ; Kirk, 1975b). L'absorption $a(\lambda)$ *in vivo* à une longueur d'onde donnée λ mesurée pour une quantité de pigments donnée est inférieure à l'absorption $a_{sol}(\lambda)$ qui serait mesurée si ces pigments étaient uniformément dissous dans la solution analysée. Il est possible de tenir compte de cet effet pour calculer $a_{sol}(\lambda)$, connaissant la

¹ HPLC : High Precision Liquid Chromatography

concentration et le diamètre moyen des cellules (paramètres fournis par le HIAC). Cette méthode repose sur l'utilisation du modèle de Van de Hulst (1957) dont les équations sont une extension de la théorie de Mie sur les particules en suspension. Celles-ci sont supposées sphériques, homogènes et doivent posséder un indice de réfraction peu différent de celui du milieu environnant. Différents auteurs (Sciandra *et al.*, 2000 ; Le Floch *et al.*, 2002, Stramski *et al.* 2002, Bricaud *et al.*, 1988) ont pu appliquer ce modèle à différentes espèces de phytoplancton appartenant à différentes classes sur la base d'hypothèses simplificatrices.

La mesure de $a(\lambda)$ dans le visible, automatisée, est obtenue par un spectrophotomètre DMS100 Varian relié à un ordinateur qui contrôle également le remplissage, la vidange et le rinçage de la cuve de mesure, le passage des échantillons et la préparation des blancs. Le lecteur trouvera dans Le Floch *et al.* (2002) une présentation détaillée de ce dispositif. Les mesures effectuées *in vivo* peuvent être comparées aux mesures réalisées *in vitro* de façon simultanée.

Chapitre IV

Modélisation de la croissance

phytoplanctonique

Chapitre IV

Modélisation de la croissance phytoplanctonique

I. INTRODUCTION.	45
II. REPRESENTATIONS CLASSIQUES DE LA CROISSANCE DU PHYTOPLANKTON DANS LES MODELES DE RESEAUX TROPHIQUES : LOI DU MINIMUM ET LOI MULTIPLICATIVE.	45
III. DES MODELES DEDIES A L'ETUDE DE LA CROISSANCE DU PHYTOPLANKTON.	48
III.1. MODELE DE MONOD (1942).	48
III.2. MODELE DE DROOP (1969).	49
III.3. MODELE DE SHUTER (1979).	50
III.4. MODELE DE CLOERN <i>ET AL.</i> (1995).	51
III.5. MODELE DE ZONNEVELD (1998).	52
III.6. MODELE DE GEIDER <i>ET AL.</i> (1998).	52
III.7. MODELE DE FLYNN (2001).	53
IV. LE MODELE BIOLOV.	54
IV.1. HYPOTHESES ET FORMULATION DU MODELE.	56
IV.2. PROPRIETES IMPLICITES.	59
IV.3. PROPRIETES QUALITATIVES A L'EQUILIBRE.	60
a) <i>Solutions à l'équilibre.</i>	60
b) <i>Synthèse du comportement qualitatif du modèle et de ses solutions à l'équilibre.</i>	62
V. CHOIX D'UNE APPROCHE EXPERIMENTALE.	63
V.1. EXPERIENCE 1 : EQUILIBRE DES VARIABLES DE CULTURES OBTENUS POUR DIFFERENTS NIVEAUX D'INTENSITE LUMINEUSE ET DE TAUX DE DILUTION.	64
V.2. EXPERIENCE 2 : MOUVEMENTS CONVECTIFS DANS UNE COLONNE D'EAU.	65
V.3. EXPERIENCE 3 : CULTURES SOUS REGIMES LUMINEUX PERIODIQUE PUIS CONTINU.	66

I. Introduction.

Ce chapitre présente les hypothèses, les considérations théoriques et les motivations qui ont conduit au développement du modèle de croissance phytoplanctonique « BioLOV ». De nombreux modèles décrivent la croissance du phytoplancton avec des niveaux de complexité très variables. Leur point commun est que la croissance est toujours limitée par un ou plusieurs facteurs environnementaux, essentiellement la lumière, un ou plusieurs sels nutritifs, et la température. Ce chapitre dégage dans un premier temps, au travers d'un tour d'horizon non exhaustif, les principaux traits et limitations des formulations actuelles utilisées pour décrire la croissance phytoplanctonique. Dans un deuxième temps, les hypothèses sous-jacentes au modèle BioLOV sont présentées, et ses propriétés mathématiques sont ensuite analysées pour les situations d'équilibre.

II. Représentations classiques de la croissance du phytoplancton dans les modèles de réseaux trophiques : loi du minimum et loi multiplicative.

Les modèles de réseaux trophiques en biogéochimie utilisent généralement des formulations du taux de croissance du phytoplancton relativement simples, y compris dans le cas de limitations multiples. Cette simplicité est généralement expliquée par le fait que ces réseaux trophiques sont généralement étudiés à des échelles de temps supérieures à celles qui caractérisent la physiologie du phytoplancton, notamment celles de la photoadaptation, ce qui revient à négliger les processus cellulaires qui répondent à des variations diurnes de l'environnement. Sur de longues périodes de simulation, différents auteurs (Evans & Garcon, 1997 ; Flynn & Fasham, 2003) considèrent que la prise en compte de la variation journalière du flux lumineux complique inutilement les modèles saisonniers. Aux petites échelles, la représentation de la colimitation azote/lumière incite au découplage entre l'absorption et la croissance. L'absorption du substrat permet la synthèse de pigments et de métabolites. La photosynthèse est sous la dépendance de pigments et de la lumière. La représentation de ces phénomènes implique des modèles relativement complexes alors que les modèles

biogéochimiques complexes reposent plutôt sur des irradiances journalières moyennes que sur des irradiances instantanées. Ceci permet dans les modèles à grandes échelles, l'utilisation de formulations plus simples qui ne représentent pas la photoadaptation mais qui tiennent compte néanmoins de l'abondance des flux de photons et de sels nutritifs. Dans ces modèles, la formulation de la croissance repose généralement sur deux types de représentations empiriques. La première utilise le concept de loi du minimum, alors que la seconde considère les effets multiplicatifs de différents facteurs du milieu.

La loi du minimum résulte d'un concept introduit par von Liebig en 1840, selon lequel la croissance est sous le contrôle exclusif du facteur le plus limitant, celui-ci étant déterminé en comparant des courbes de réponse individuelle de la croissance établies pour chaque facteur pris séparément. Pour un ensemble de facteurs considérés, la croissance est exprimée à l'aide de la réponse fonctionnelle qui calcule le taux le plus faible. Les réponses fonctionnelles sont établies expérimentalement pour une gamme de variation de chacun des facteurs, les autres étant maintenus optimaux pour la croissance. La fonction résultante de croissance s'exprime généralement de la façon suivante :

$$\mu(f_1, f_2, \dots, f_n) = \mu_m \cdot \text{Min}[\mu_{f1}(f_1), \mu_{f2}(f_2), \dots, \mu_{fn}(f_n)]$$

$\mu_{f1}(f_1), \mu_{f2}(f_2), \dots, \mu_{fn}(f_n)$ sont les réponses fonctionnelles établies respectivement pour chaque facteur $f_1, f_2, \dots, f_n$.

Le formalisme multiplicatif considère que les limitations par différents facteurs du milieu peuvent agir simultanément. Le taux de croissance résultant est alors le produit des fonctions de limitations:

$$\mu(f_1, f_2, \dots, f_n) = \mu_m \cdot f_1(f_1) \cdot f_2(f_2) \cdot \dots \cdot f_n(f_n)$$

μ_m est le taux de croissance optimal. $f_1(f_1), f_2(f_2), \dots, f_n(f_n)$ correspondent aux réponses respectives de la croissance à des limitations par les facteurs $f_1, f_2, \dots, f_n$.

Bien que ces deux lois soient couramment utilisées dans les formulations de la croissance, elles reposent davantage sur des facilités mathématiques que sur des hypothèses biologiques. En effet, la réponse du phytoplancton à une colimitation est plus complexe que l'amalgame des réponses individuelles: les couplages métaboliques internes font que ces relations ne sont pas indépendantes les unes des autres, mais plutôt fonction les unes des autres. Contrairement à ce que supposent les formalismes empiriques généralement utilisés, ces relations ne sont pas invariantes dès lors qu'une limitation supplémentaire intervient. Cette représentation de la croissance apparaît de ce fait trop simple pour être réaliste dans le cas de limitations simultanées.

Le Floc'h (2002) a comparé pour la cryptophycée *Rhodomonas salina* les taux de croissance estimés à partir de ces deux lois aux taux déduits d'observations expérimentales dans le cadre d'une colimitation azote/lumière. Cet auteur a pu montrer que la loi du minimum tend à surestimer le taux de croissance par rapport à celui issu des observations. De même, pour la loi multiplicative, lorsque la lumière devient limitante, les écarts entre estimations et observations deviennent significatifs. Pour une intensité lumineuse saturante, les taux de croissance déduits de cette loi ne sont pas comparables aux observations, mais on ne peut alors parler réellement de colimitation dans la mesure où seul un facteur agit sur la croissance.

Il semble donc que ni la loi du minimum, ni le formalisme multiplicatif ne permettent de représenter correctement la croissance du phytoplancton dans le cas d'une colimitation obtenue expérimentalement par le nitrate et la lumière. Selon ces deux approches, la croissance est directement couplée à la lumière et au substrat, mais les observations montrent que la colimitation est un phénomène plus complexe. Ceci a encouragé le développement de modèles de croissance phytoplanctonique avec une représentation plus détaillée de la colimitation azote/lumière.

III. Des modèles dédiés à l'étude de la croissance du phytoplancton.

Les modèles précédents sont simples et permettent donc de représenter le phytoplancton en tant que sous-ensemble d'un écosystème plus complexe. De nombreux auteurs ont développé des modèles entièrement dédiés à l'étude de la croissance phytoplanctonique dans le cas d'une ou de plusieurs limitations. La vocation première de ces modèles est de décrire l'évolution des caractéristiques d'une population d'algues, mais ils peuvent, pour certains, s'intégrer dans des modèles de nature biogéochimiques et/ou d'écosystèmes.

III.1. Modèle de Monod (1942).

Le premier modèle exprimant la croissance d'une population en fonction de la concentration d'un substrat fût le modèle développé par Monod (1942) dans le cadre de cultures bactériennes. Il repose sur l'hypothèse que le taux de croissance est proportionnel à l'absorption du substrat (figure IV-1). La proportionnalité s'exprime par un facteur de conversion constant entre substrat et biomasse. Ce facteur peut aussi intégrer le fait que tout le substrat n'est pas entièrement affecté à la croissance. Cette proportionnalité est représentée dans ce modèle par le rendement Y .

$$\dot{S} = D(S_{in} - S) - \frac{\mu m}{Y} \frac{S}{S + k_s} X \quad (IV.1)$$

$$\dot{X} = -DX + \mu m \frac{S}{S + k_s} X \quad (IV.2)$$

Ce système d'équations représente l'interaction entre un substrat (facteur limitant) de

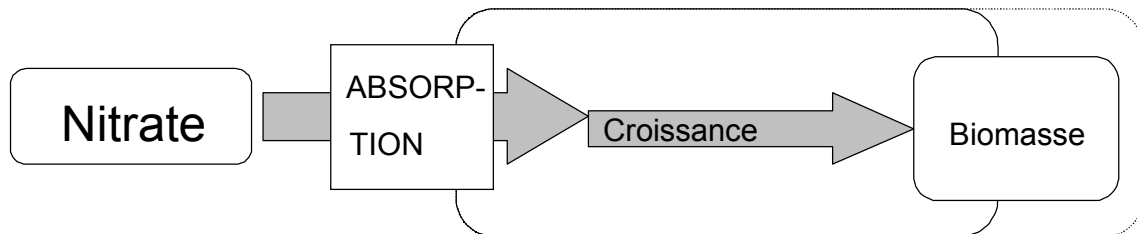


Figure IV-1: Schéma conceptuel du modèle de Monod (1949). La croissance est couplée à l'absorption du nitrate.

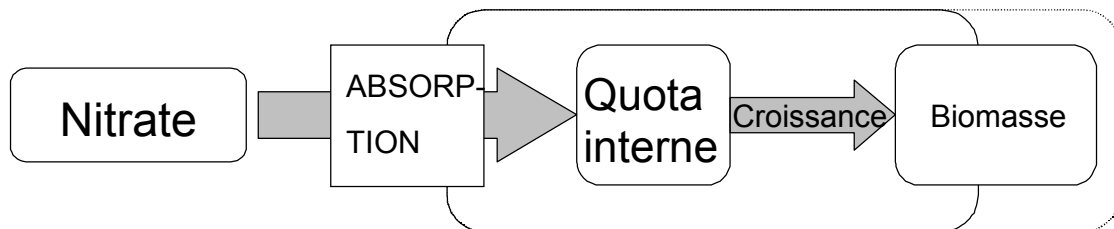


Figure IV-2: Schéma conceptuel du modèle de Droop (Burmester, 1979). La croissance est découplée de l'absorption grâce à l'existence du quota interne qui représente le statut azoté de la cellule. Ce quota augmente avec l'absorption du substrat. La croissance n'est possible que lorsque le quota est supérieur à un certain niveau.

concentration S dans un chémostat, et la biomasse en micro-organismes X , D étant le taux de dilution, S_{in} la concentration en facteur limitant entrant dans le chémostat. k_s est la constante de demi-saturation d'une relation de Michaelis-Menten qui exprime le taux de croissance en fonction de la concentration en substrat. Si nous posons que ρ_m est le taux maximal d'absorption, le taux de croissance maximal de la population μ_m peut se définir par la relation suivante :

$$\rho_m = \frac{\mu_m}{Y} \quad (IV.3)$$

Dans la réalité, il est impossible que Y soit une constante, car ceci suppose que la composition cellulaire reste inchangée et indépendante des conditions externes.

Bien que fréquemment utilisé, ce modèle présente une faiblesse majeure car il suppose que la croissance étant directement couplée à l'absorption du substrat. En effet, différents auteurs (Kuenzler et Ketchum, 1962 ; Droop, 1968) ont démontré l'existence d'un découplage entre absorption et croissance. Eppley et Strickland en 1968 ont renforcé cette idée en émettant l'hypothèse que la croissance dépend d'avantage de la concentration intracellulaire en facteur limitant que de sa concentration extracellulaire. Malgré ceci, le modèle de Monod est toujours utilisé couramment dans les modèles d'écosystèmes (par exemple de type NPZ¹ ou NPZD²).

III.2. Modèle de Droop (1969).

Ce modèle, proposé par Droop et formalisé par Burmaster en 1979 intègre l'existence d'un quota interne (figure IV-2). La possibilité d'une relation entre quota interne et croissance

¹ NPZ : Nutrients Phytoplankton Zooplankton

² NPZD : Nutrients Phytoplankton Zooplankton Détritus

a été introduite par Caperon (1968) et Droop (1968). Le quota interne d'une substance donnée représente la quantité de cette substance par unité d'organisme. La signification du quota diffère donc en fonction du descripteur utilisé pour quantifier la population d'organismes (nombre de cellules, poids sec, poids d'un autre élément comme le carbone, etc). La croissance n'est possible que lorsque ce quota est supérieur à une valeur dite « quota minimal » ou de subsistance. Droop a pu expérimentalement mettre en évidence que la croissance est une fonction du quota interne selon une relation curvilinéaire. La notion de quota est couramment utilisée dans les modèles actuels de croissance (Flynn, 2003b) . Comme pour le modèle de Monod, le modèle de Droop décrit les évolutions de la concentration en substrat et en biomasse, mais il intègre en outre la dynamique du quota interne (Q) qui est une variable d'état supplémentaire qui conditionne la capacité de croissance de l'algue :

$$\dot{S} = D(S_{in} - S) - \rho m \frac{S}{S + k_s} X \quad (IV.4)$$

$$\dot{X} = -DX + \bar{\mu} \left(1 - \frac{k_Q}{Q} \right) X \quad (IV.5)$$

$$\dot{Q} = \rho m \frac{S}{S + k_s} - \mu m \left(1 - \frac{k_Q}{Q} \right) Q \quad (IV.6)$$

où k_Q est le quota minimum. Dans l'équation IV.5, le terme de croissance $\bar{\mu} \left(1 - \frac{k_Q}{Q} \right)$ est la relation établie expérimentalement par Droop.

III.3. Modèle de Shuter (1979).

Ce modèle de type « physiologique » a été développé pour montrer que les changements de composition cellulaire induits par les variations de l'environnement dépendent

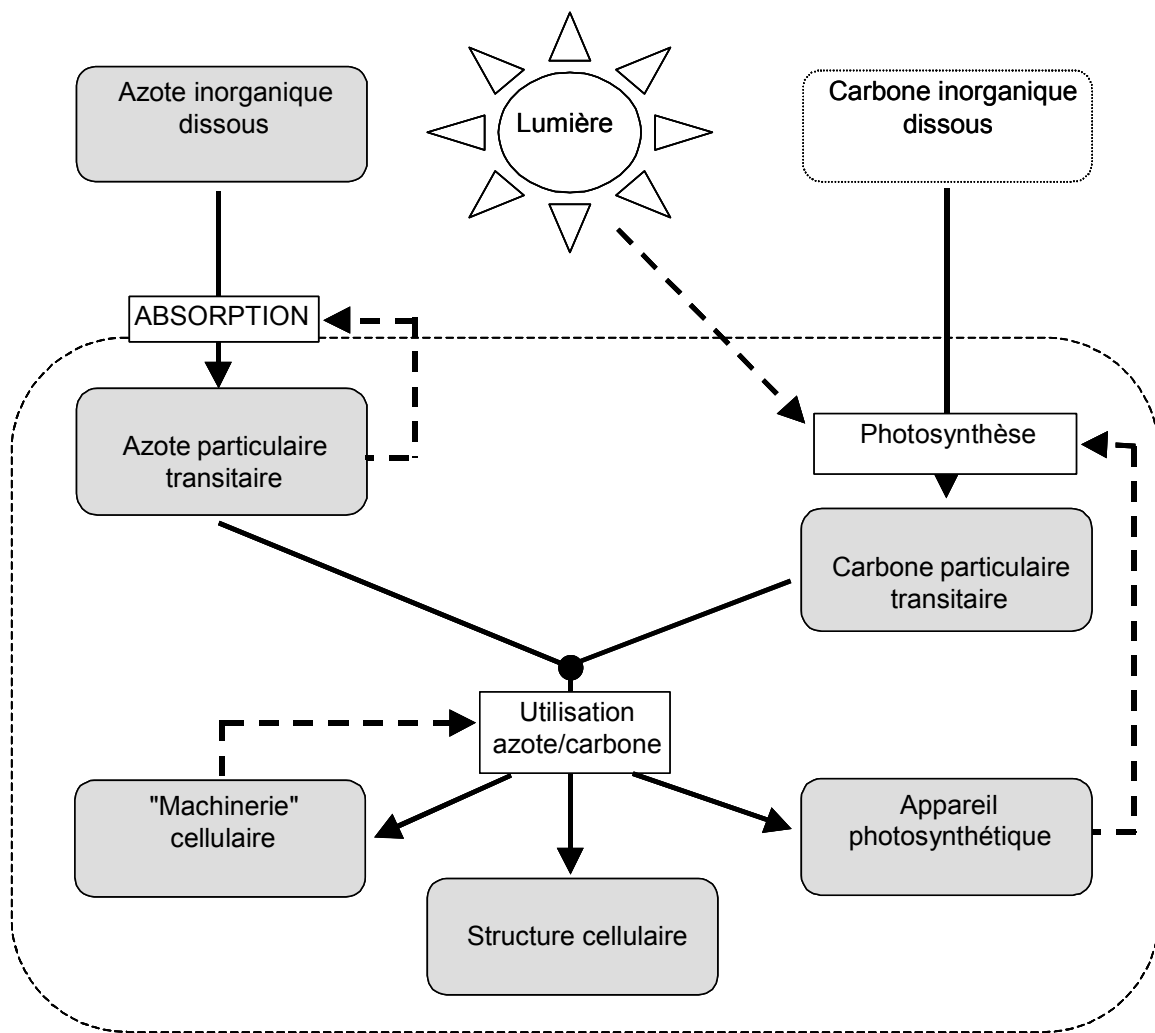


Figure IV-3 : Schéma conceptuel du modèle de Shuter (1979). Ce modèle répartit le carbone et l'azote incorporés dans cinq compartiments. Deux servent aux stockages de l'azote et du carbone. Les trois autres décrivent la structure cellulaire, l'appareil photosynthétique et la machinerie cellulaire qui permet la synthèse des différentes macromolécules nécessaires au métabolisme de la cellule. Les traits foncés correspondent aux flux de matière entre compartiments, les traits pointillés au contrôle qu'exerce un compartiment sur un processus.

à un principe d'optimisation de la croissance obtenue grâce à des « ajustements » métaboliques. L'originalité de ce modèle est de décrire l'allocation du carbone en quatre compartiments fonctionnels distincts (figure IV-3): l'appareil photosynthétique, la machinerie associée à la synthèse des macromolécules, le matériel structural de la cellule et les réserves de carbone. Parmi les nombreuses hypothèses posées, trois paraissent plus importantes que les autres: 1) la fixation photosynthétique du carbone est proportionnelle à l'intensité lumineuse. 2) l'assimilation des sels nutritifs dépend à la fois de leurs concentrations externe et interne. 3) le carbone doit nécessairement transiter par le compartiment de stockage. En raison du nombre important d'hypothèses, ce modèle présente un comportement qualitatif proche des faits expérimentaux. Cependant, sa formulation complexe et le nombre élevé de paramètres rendent son identification ardue, d'autant que les variables impliquées sont difficilement mesurables expérimentalement.

III.4. Modèle de Cloern *et al.* (1995).

Ce modèle est défini par ses propres auteurs comme étant un modèle empirique du rapport chlorophylle:carbone (Chl *a*:C) qui prend en compte l'effet la température, de l'irradiance journalière et du taux de croissance pour des conditions de limitation par un nutriment. Les paramètres utilisés sont extraits de 219 publications. Outre le fait que ce modèle présente un comportement qualitatif cohérent avec les faits expérimentaux, il présente l'avantage de pouvoir être intégré facilement à d'autres modèles en donnant ainsi une solution « prête à l'emploi » pour décrire l'évolution du rapport chlorophylle :carbone. Ce n'est pas un modèle de dynamique de biomasse mais un modèle empirique de photoadaptation. Ce modèle peut servir par exemple à estimer des quantités de carbone particulaire à partir de mesures satellitaires de couleur de l'eau, ou s'intégrer dans des modèles saisonniers qui ne tiennent pas compte des variations journalières de l'éclairement.

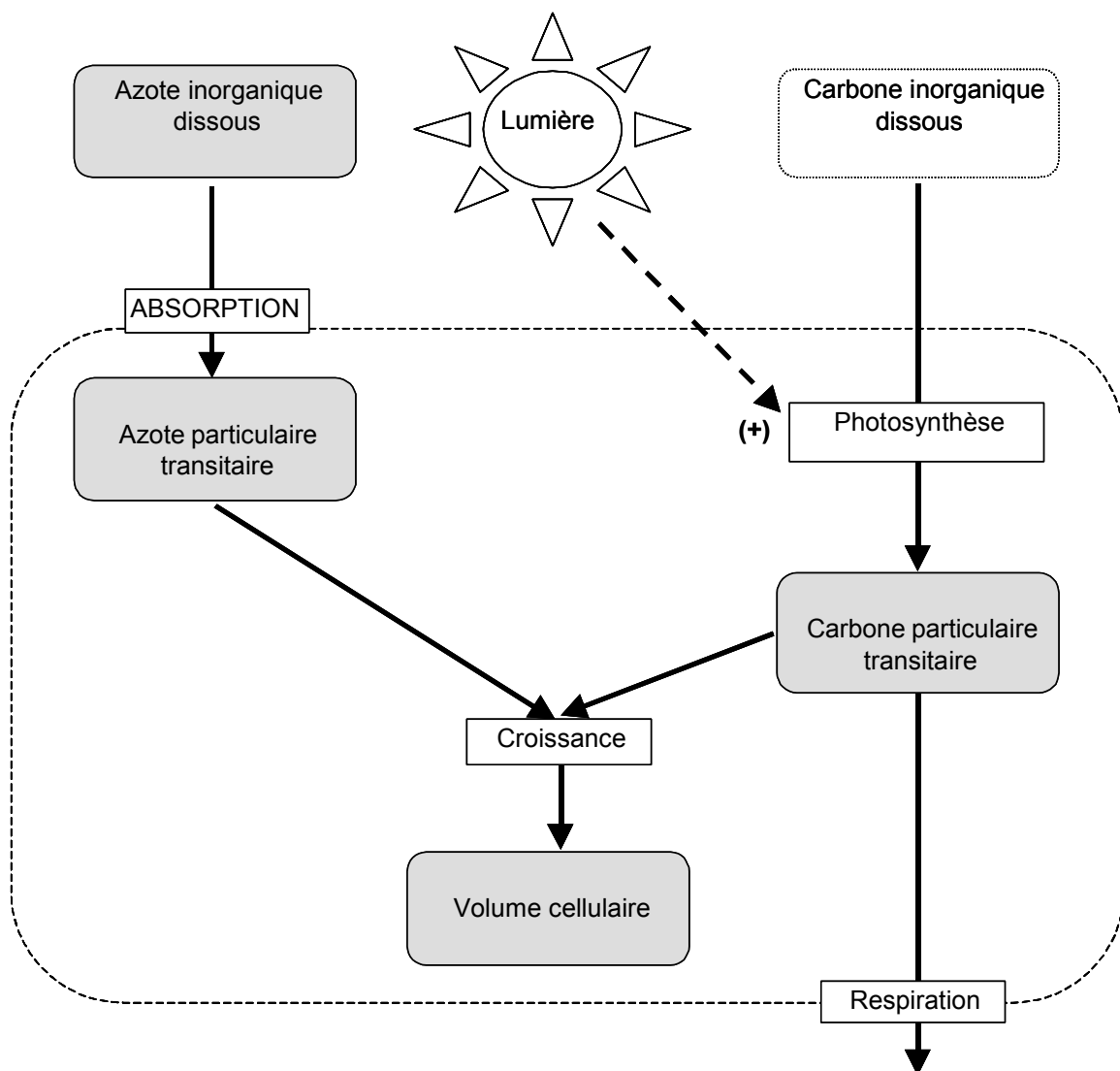


Figure IV-4: Schéma conceptuel du modèle de Zonneveld (1998). Le carbone fixé constitue dans un premier temps une réserve de carbone intracellulaire non mobilisée par la cellule. Le nitrate absorbé s'accumule également dans un pool de réserve mais azoté. Les statuts en azote et en carbone vont conditionner la croissance de la cellule notamment le volume cellulaire.

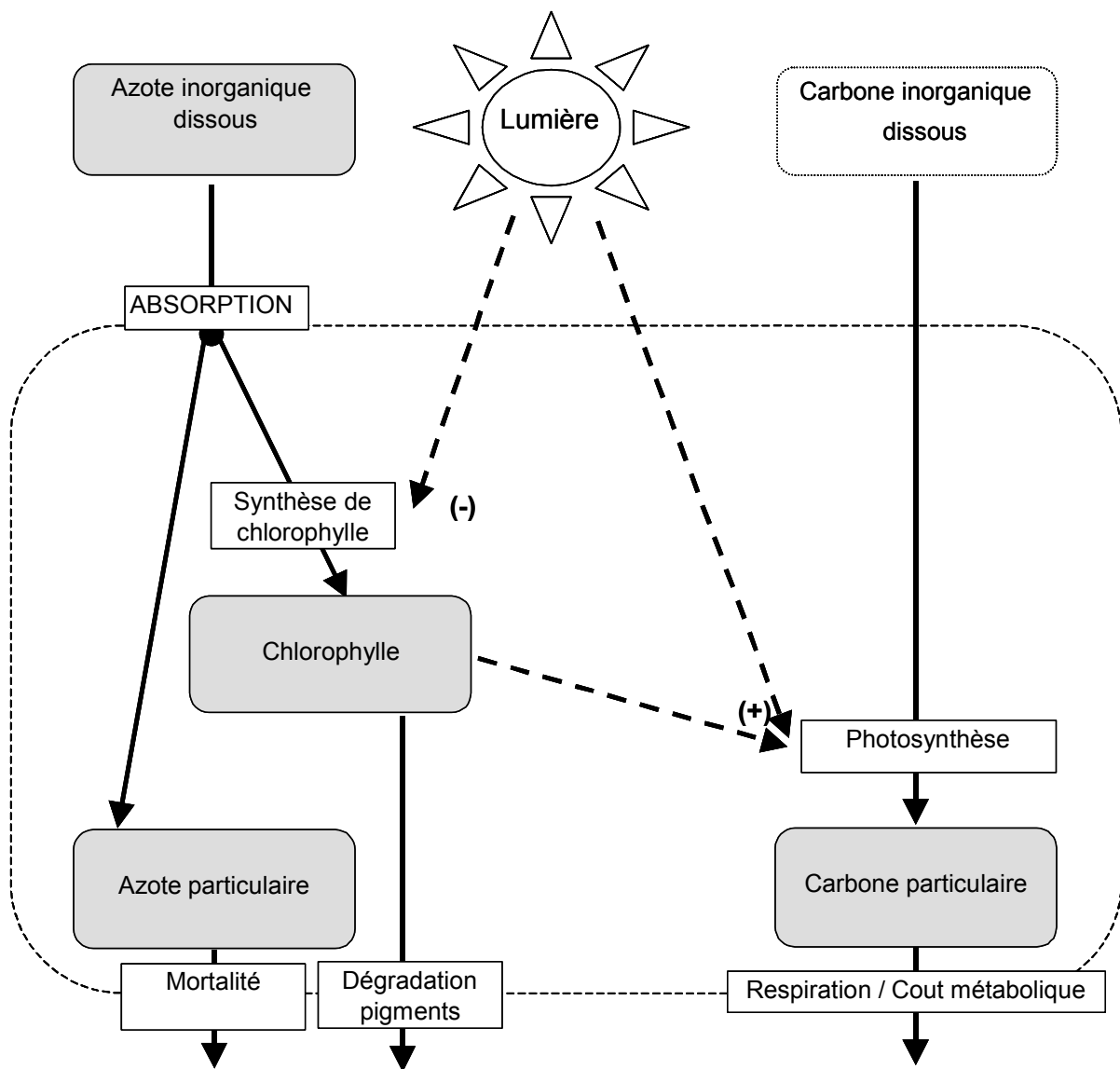


Figure IV-5: Schéma conceptuel du modèle de Geider *et al.* (1998). Ce modèle considère l'évolution de la chlorophylle, de l'azote et du carbone particulaire. Les relations qui lient ces variables dépendent des rapport azote:carbone et chlorophylle:carbone qui agissent sur l'absorption, la synthèse de chlorophylle et la photosynthèse. Ce modèle intègre de façon distincte la photosynthèse et la photoadaptation. Chaque variable présente des pertes liées à l'activité métabolique de la cellule.

III.5. Modèle de Zonneveld (1998).

Ce modèle décrit le rapport *Chl a*:C au sein d'une cellule. L'azote y est représenté comme un facteur potentiellement limitant pour la croissance. La cellule phytoplanctonique est décrite au moyen de trois variables d'états (figure IV-4): son volume cellulaire et deux compartiments de réserves en carbone et en azote. La fixation du carbone par la photosynthèse assure le remplissage du pool de carbone qui sert ensuite à la croissance de la cellule. De ce fait lorsque la disponibilité intracellulaire relative du carbone est plus faible que celle de l'azote, l'auteur considère que la cellule est limitée par la lumière. Dans le cas contraire, la croissance est limitée par l'azote qui rentre dans la cellule au travers d'un processus d'absorption qui dépend de la concentration extracellulaire en azote. La formulation proposée par Zonneveld utilise relativement peu de paramètres (14) et présente un comportement fidèle aux observations dans le cas de systèmes limités soit par la lumière, soit par un sel nutritif. Cependant, le modèle n'a pas été testé dans le cas de limitations simultanées.

III.6. Modèle de Geider *et al.* (1998).

Ce modèle, présenté dans Geider *et al.* (1998), et qui décrit la croissance de cellules autotrophes limitées par un sel nutritif et la lumière, est dérivé d'une formulation précédente présentée dans Geider *et al.*, (1996). Dans cette version initiale, la cellule comprend trois compartiments fonctionnels de carbone. Ces compartiments représentent les proportions de carbone dédié à l'appareil photosynthétique, au métabolisme de maintenance et aux réserves. Le modèle exprime également la chlorophylle, qui n'est pas en soi une variable d'état mais provient d'une relation qui dépend de l'intensité lumineuse et du pool de carbone associé à l'appareil photosynthétique. Dans la seconde version (Geider *et al.*, 1998), les trois compartiments (figure IV-5) sont représentés par des concentrations en carbone, azote particulaire, et en chlorophylle *a*. Une variable représentant le substrat peut également être ajoutée à cette formulation sans modifier les équations initiales. Ce modèle intègre également

Tableau IV-1: Récapitulatif des principales propriétés des modèles présentés.

Référence	Nombre de variables d'état	Nombre de paramètres	Limitations	Utilisation de quotas	Photoadaptation	Phénomène de compensation
Monod, 1942	2	4	1 nutriment	Non	Non	Non
Modèle de Droop (Burmester, 1979)	3	4	1 nutriment	Oui	Non	Non
Shuter, 1979	6	13	1 nutriment, lumière, température	Oui	Oui	Oui
Flynn, 2001	13	55	1 nutriment, lumière, température multnutriments, lumière, température	Oui	Oui	Oui
Geider et al., 1998	4	12	1 nutriment, lumière, température	Oui	Oui	Non
Zonneveld, 1998	5	14	1 nutriment, lumière	Oui	Oui	Oui

une régulation de la croissance par la température, mais il n'a pas été testé en fonction de ce facteur.

III.7. Modèle de Flynn (2001).

Il s'agit d'un modèle mécaniciste qui décrit la croissance du phytoplancton en fonction de la lumière, de la température et des concentrations en ammonium, nitrate, fer, silice et phosphore. Sa formulation, qui permet d'ajouter ou de soustraire au cas par cas les limitations énoncées précédemment, est complexe puisqu'elle inclut pas moins de 13 variables d'état et 63 paramètres, pour décrire, entre autres, la biomasse exprimée en carbone, la concentration en cellules, ainsi que différents quotas et métabolites. La paramétrisation des flux entre les différents compartiments cellulaires fait intervenir des expressions booléennes. Le niveau élevé de détails cellulaires confère à ce modèle des propriétés mathématiques difficilement interprétables. Par ailleurs, le nombre important de paramètres rend impossible toute identification, d'autant que certaines variables représentent des grandeurs complexes à acquérir expérimentalement. De part sa formulation extrêmement détaillée, ce modèle ne peut s'intégrer que difficilement dans des modèles d'écosystèmes, il s'agit avant tout d'un modèle physiologique.

Les modèles de croissance phytoplanctonique (tableau IV-1) se répartissent donc principalement suivant deux catégories : des modèles physiologiques et détaillés qui décrivent le fonctionnement détaillé d'une cellule, et ceux plus simples, dont la vocation est de calculer une biomasse phytoplanctonique dans le milieu marin.

- Les modèles physiologiques (par exemple, Shuter, 1979 ; Flynn, 2001) sont conçus pour étudier l'action de différentes limitations sur la régulation du fonctionnement interne de la cellule. Les compartiments cellulaires étant décrits finement pour satisfaire un certain niveau de réalisme, ces modèles présentent en contrepartie

l'inconvénient d'être complexes. Leur dimension importante, en variables et en paramètres, les rendent difficilement intégrables à des modèles de réseaux trophiques. Par ailleurs, leur confrontation à des données expérimentales est souvent délicate car ils utilisent des variables qui ne sont pas toujours mesurables. De nombreux modèles de ce type restent donc invalidés. **Les modèles physiologiques sont donc essentiellement adaptés à l'étude théorique de réponses physiologiques des cellules aux fluctuations de l'environnement; à cause de leur complexité, ils ne s'intègrent pas aisément dans les modèles développés en biogéochimie.**

- Les modèles de dynamique de biomasse (par exemple, Monod, 1942 ; Burmaster, 1979 ; Zooneveld, 1998 ; Geider *et al.*, 1998) utilisent un nombre restreint de variables et de paramètres pour décrire essentiellement des transferts de matière entre compartiments au travers de processus représentés beaucoup plus simplement que dans le cas des modèles mécanicistes. Leur structure simple leur permet d'être intégrés dans des modèles d'écosystèmes. Cependant, ces modèles, aussi simples soient-ils, peuvent avoir un formalisme qui rend leur analyse mathématique et l'identification de leurs paramètres ardue. De plus, ils ne sont pas capables, contrairement aux modèles mécanicistes, de représenter ou d'incorporer des phénomènes discrets comme la division cellulaire. **Ces modèles constituent donc un compromis entre la complexité des modèles phénoménologiques d'une part, et l'empirisme qui est généralement de mise dans la formulation de la croissance phytoplanctonique adoptée dans les modèles de réseaux trophiques, d'autre part. Sous réserve de pouvoir identifier leurs paramètres et de les valider, ces modèles peuvent être intégrés dans les modèles de réseaux trophiques.**

IV. Le modèle BioLOV.

Les exemples précédents ont montré les forces et les faiblesses de différents types de représentations. Il est donc évident que la recherche d'un modèle optimal doit s'appuyer sur l'objectif recherché qui est pour BioLOV de quantifier correctement la fixation du carbone dans

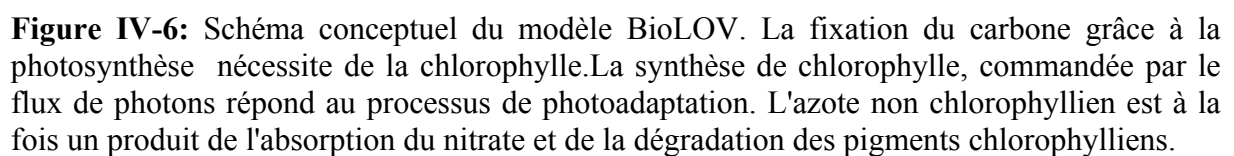
un environnement marin caractérisé par une variabilité significative des facteurs régulant la production autotrophe. Cela implique que ce modèle puisse, à terme, être intégré dans un ensemble mathématique plus complexe tel qu'un modèle de réseau trophique couplé à un modèle hydrodynamique. Pour remplir cet objectif, ce modèle doit être conçu pour respecter les règles suivantes :

- **Comporter peu de variables et peu de paramètres** afin de pouvoir être implémenter facilement à un modèle d'écosystème.
- **Représenter les processus par des relations mathématiques simples.** Cette condition permet à la fois de cerner de façon optimale les propriétés mathématiques du modèle et d'identifier plus facilement les paramètres.
- **Utiliser des variables aisément mesurables** afin de rendre possible sa confrontation à des données expérimentales et de terrain, c'est-à-dire permettre son identification et sa validation.

Ces contraintes ont servi de fil directeur à l'élaboration du modèle BioLOV, initiée par Eveillard (2000). Cette première formulation présentait certaines propriétés qualitatives qui étaient en désaccord avec des observations expérimentales acquises en chémostat (Le Floch, 2002). Notamment la relation positive qu'on observe à l'équilibre entre le taux de dilution et la concentration en chlorophylle ne pouvait pas être restituée par le modèle. Sur la base de ces expériences, une nouvelle formulation et un nouveau schéma conceptuel ont été proposés par moi-même (Pawlowski, 2001 ; Pawlowski *et al.*, 2002).

Une caractéristique importante de ce modèle est qu'il ne représente pas l'évolution de la chlorophylle *a stricto senso* mais celle de l'azote (apoprotéines) associé aux molécules de chlorophylle. Nous considérons en effet que le rapport f de la masse d'azote et de chromophores d'une molécule de chlorophylle est constant. Cette hypothèse permet de:

- 1) représenter la chlorophylle cellulaire par la quantité d'azote qui lui est affectée (l'azote chlorophyllien L équivaut à la chlorophylle au facteur f près),
- 2) représenter le coût azoté de la synthèse de chlorophylle (conversion d'azote non



chlorophyllien en azote chlorophyllien lors de la photoadaptation).

Cette approche est justifiée par le fait que le modèle intègre à la fois le phénomène de photoadaptation mais aussi le phénomène de compensation, deux processus dépendant du statut azoté de la cellule. La photoadaptation est un contrôle de la synthèse des pigments par rapport à l'intensité du flux de photon, synthèse qui nécessite de l'azote. Le phénomène de compensation reflète la mobilisation d'un excès d'azote cellulaire pour la synthèse des pigments. De ce fait, la photoadaptation n'est possible que si de l'azote est disponible. Pour simplifier la représentation de ces phénomènes, nous considérons donc trois formes d'azote: le nitrate, l'azote particulaire non chlorophyllien qui s'échange avec l'azote particulaire chlorophyllien en fonction des besoins de la photoadaptation, et du statut azoté de la cellule.

IV.1. Hypothèses et formulation du modèle.

Le modèle représente les flux de matière entre différents compartiments fonctionnels. Le modèle intègre quatre variables d'état (figure IV-6) décrivant les concentrations dans le milieu en carbone particulaire, azote particulaire, chlorophylle et nitrate. Ce modèle a été développé sur la base des observations en chémostat. De ce fait, chaque équation comporte un terme de perte ou d'apport lié au renouvellement des cultures.

La croissance nette à un instant t est égale à la différence entre le carbone inorganique fixée photosynthétiquement sous forme de carbone particulaire et les pertes par respiration. Nous considérons que le taux de fixation de carbone dépend à la fois de l'intensité lumineuse I (fonction $a(I)$) et de la concentration en azote chlorophyllien L . Les pertes λ par respiration sont considérées constantes. Le carbone inorganique dissous est également supposé non limitant pour la photosynthèse. L'équation d'évolution du carbone particulaire est donc la suivante (les paramètres du modèle et les unités pour les équations qui suivent sont indiqués dans le tableau II):

$$\dot{C} = -d \cdot C + a(I) \cdot L - \lambda \cdot C \quad (\text{IV.7})$$

Le taux de photosynthèse $a(I)$ est représenté par l'équation de Michaelis-Menten:

$$a(I) = \frac{\alpha \cdot I}{k_i + I} \quad (\text{IV.8})$$

Cette représentation simplifiée de la fixation du carbone, qui ne dépend que du flux de photons et de la quantité de chlorophylle, suppose implicitement que le taux d'absorption spécifique de la chlorophylle ainsi que le rendement quantique de la photosynthèse sont constants. Les observations acquises sur le terrain et au laboratoire montrent que ce n'est le cas ni pour le rendement quantique (Babin *et al.*, 1995), ni pour l'absorption spécifique de la chlorophylle a (Stramski *et al.*, 2002). Certains modèles tiennent compte de la variabilité de ces termes (par exemple Cullen, 1992), alors que d'autres les considèrent comme constants (par exemple Geider *et al.*, 1998).

Le taux de synthèse de l'azote chlorophyllien dépend ici à la fois du quota en azote non chlorophyllien et de l'intensité lumineuse. La croissance stimule également la synthèse de chlorophylle avec un taux qui se déduit de l'équation du carbone particulaire :

$$\mu_{\text{brut}} = a(I) \cdot \frac{L}{C} \quad (\text{IV.9})$$

Des études expérimentales (Rhee & Gotham, 1981 ; Sciandra *et al.*, 1997) ont mis en évidence les effets des interactions entre les nitrates et la lumière sur la croissance. La cellule peut compenser l'effet sur sa croissance d'une diminution de la lumière par une optimisation de sa capacité à capter des photons en augmentant la synthèse de pigments photosynthétiques (Falkowski & Owens, 1980) et via la régulation de l'activité de la Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). La Rubisco et la chlorophylle constituent des réserves importantes d'azote particulaire qui varient selon l'intensité lumineuse et le contenu en azote des cellules (Sciandra *et al.*, 1997). La photoadaptation des cellules dans le cas d'une décroissance de l'intensité lumineuse requiert un surplus d'azote (pour la synthèse de chlorophylle mais aussi pour les protéines et les acides ribonucléiques). Par conséquent, ce phénomène de compensation n'est possible que si l'azote particulaire est suffisamment disponible pour couvrir les besoins de la cellule.

Le modèle BioLOV intègre à la fois photoadaptation et phénomène de compensation. Nous considérons, en effet, que la synthèse des pigments est accrue lorsque la lumière décroît afin de permettre la photoadaptation des cellules. Ceci est représenté par le terme $k(I)$, défini par l'équation (IV.10) où kl est un terme de synthèse maximal des pigments et kc , un coefficient d'ajustement par rapport à l'intensité lumineuse. La synthèse dépend du pool d'azote non chlorophyllien et de ce fait, une disponibilité plus importante d'azote dans ce pool peut compenser une carence de lumière.

$$k(I) = \frac{kc \cdot kl}{kc + I} \quad (IV.10)$$

Nous considérons aussi que l'azote chlorophyllien est renouvelé en permanence entre la synthèse explicitée précédemment et une dégradation des pigments à un taux β constant. Ces différentes hypothèses nous amènent à définir l'équation de l'azote particulaire chlorophyllien:

$$\dot{L} = -d \cdot L + a(I) \cdot k(I) \cdot N \cdot \frac{L}{C} - \beta \cdot L \quad (IV.11)$$

L'azote chlorophyllien est synthétisé à partir du pool d'azote non chlorophyllien (variable N – équation IV.12) qui lui-même est alimenté grâce à l'absorption du nitrate (variable S – équation IV.13) et par la dégradation des pigments chlorophylliens. L'absorption en azote est dépendante de la concentration externe en nitrate selon une relation de type Michaelis-Menten défini par un taux maximal d'absorption ρm et un coefficient de demi-saturation ks .

$$\dot{N} = -d \cdot N + \rho m \cdot \frac{S}{S + ks} \cdot C - a(I) \cdot k(I) \cdot N \cdot \frac{L}{C} + \beta \cdot L \quad (IV.12)$$

$$\dot{S} = d \cdot (Sin - S) - \rho m \cdot \frac{S}{S + ks} \cdot C \quad (IV.13)$$

Cette formulation du modèle présente deux limitations par rapport aux objectifs souhaités. D'une part, l'azote particulaire chlorophyllien n'est pas une variable mesurée mais approchée au travers de la relation IV.14 :

$$L = f \cdot Chl \quad (IV.14)$$

Il s'agit en effet d'une grandeur supposée proportionnelle à la chlorophylle qui, elle, est mesurée. La constante f permet de faire le lien entre ces deux grandeurs. Mais nous savons peu de choses sur une éventuelle variation de f en fonction des conditions de croissance. D'autre part, l'azote particulaire non chlorophyllien n'est pas une variable mesurable. Il peut théoriquement se déduire de l'azote particulaire total duquel on retranche l'azote particulaire chlorophyllien estimé d'après la relation (IV.14). Mais cette estimation est sujette aux mêmes incertitudes que précédemment.

IV.2. Propriétés implicites.

1) Le modèle BioLOV se distingue de nombreux autres modèles (par exemple ceux présentés dans la partie III de ce chapitre) dans la mesure où la croissance n'est pas explicitement formulée. Le taux de croissance net est ici une **sortie** du modèle qui se déduit de l'équation du carbone :

$$\mu_{\text{net}} = \frac{a(I) \cdot L - \lambda \cdot C}{C} = a(I) \cdot \frac{L}{C} - \lambda \quad (IV.15)$$

2) Le découplage entre l'absorption et l'assimilation des sels nutritifs fait souvent intervenir, dans les modèles standards, une équation pour les quotas (introduit par Droop, 1968). Dans le modèle BioLOV, les quotas en azote et en chlorophylle sont également des

sorties puisqu'ils se déduisent respectivement des rapports $Q = \frac{N + L}{C}$ et $Q_L = \frac{L}{C}$.

IV.3. Propriétés qualitatives à l'équilibre.

L'étude des propriétés qualitatives doit permettre de déterminer le sens d'évolution de chaque variable en fonction de l'intensité lumineuse ou du taux de dilution et de vérifier que cette évolution reflète les observations à l'équilibre. Cette comparaison permet de valider structurellement le modèle. Les propriétés mathématiques du modèle à l'équilibre permettent également de développer des méthodes d'identification des paramètres que nous présenterons dans le chapitre suivant.

a) Solutions à l'équilibre.

Les variables solutions à l'équilibre du système d'équations sont représentées avec un astérisque (S^* , N^* , L^* , C^*) :

$$d \cdot (S_{in} - S^*) - \rho m \cdot \frac{S^*}{S^* + k_S} \cdot C^* = 0 \quad (IV.16)$$

$$-d \cdot N^* + \rho m \cdot \frac{S^*}{S^* + k_S} \cdot C^* - a(I) \cdot k(I) \cdot N^* \cdot \frac{L^*}{C^*} + \beta \cdot L^* = 0 \quad (IV.17)$$

$$-d \cdot L^* + a(I) \cdot k(I) \cdot N^* \cdot \frac{L^*}{C^*} - \beta \cdot L^* = 0 \quad (IV.18)$$

$$-d \cdot C^* + a(I) \cdot L^* - \lambda \cdot C^* = 0 \quad (IV.19)$$

Les quotas de chlorophylle (IV.20) et d'azote (IV.21), exprimés ici en unité de masse par unité de masse de carbone, peuvent être calculés en résolvant ce système :

$$\frac{L^*}{C^*} = \frac{d + \lambda}{a(I)} \quad (\text{IV.20})$$

$$\frac{N^* + L^*}{C^*} = \frac{d + \lambda}{a(I)} + \frac{d + \beta}{a(I) \cdot k(I)} \quad (\text{IV.21})$$

Ces deux quotas augmentent avec le taux de dilution (donc avec la croissance) (figures IV-7 et IV-8). Nous pouvons également observer que le quota chlorophyllien décroît avec l'intensité lumineuse alors que le quota en azote diminue rapidement dans un premier temps puis augmente très lentement.

La concentration en substrat à l'équilibre S^* et d'azote non chlorophyllien N^* se déduisent de la combinaison de (IV.16) avec (IV.17) et donnent respectivement les relations suivantes:

$$S^* = \frac{ks \cdot d \cdot [k(I) \cdot (d + \lambda) + (d + \beta)]}{\rho m \cdot a(I) \cdot k(I) - d \cdot [k(I) \cdot (d + \lambda) + (d + \beta)]} \quad (\text{IV.22})$$

$$N^* = \frac{(d + \beta) \cdot (S_{in} - S^*)}{k(I) \cdot (d + \lambda) + (d + \beta)} \quad (\text{IV.23})$$

N^* décroît avec l'intensité lumineuse et avec le taux de dilution (figure IV-9) à condition que le taux de dégration pigmentaire β soit supérieure au taux de respiration λ , ce que nous supposons. Cette condition est nécessaire pour que l'azote chlorophyllien augmente avec la dilution, également conformément aux résultats expérimentaux acquis en chémostat (Laws & Bannister, 1980; Le Floch, 2002). Les concentrations calculées en substrat à l'équilibre étant très faibles par rapport à S_{in} , cette relation, ainsi que les suivantes (L^* et C^*), peuvent être approchées en considérant que la valeur de S^* est égale à 0.

La concentration en carbone particulaire (IV.24) se déduit de l'équation (IV.23) et du rapport N^*/C^* qui se détermine à partir de l'équation de l'azote chlorophyllien. Cette relation est croissante avec l'intensité lumineuse et décroissante avec le taux de dilution (figure IV-

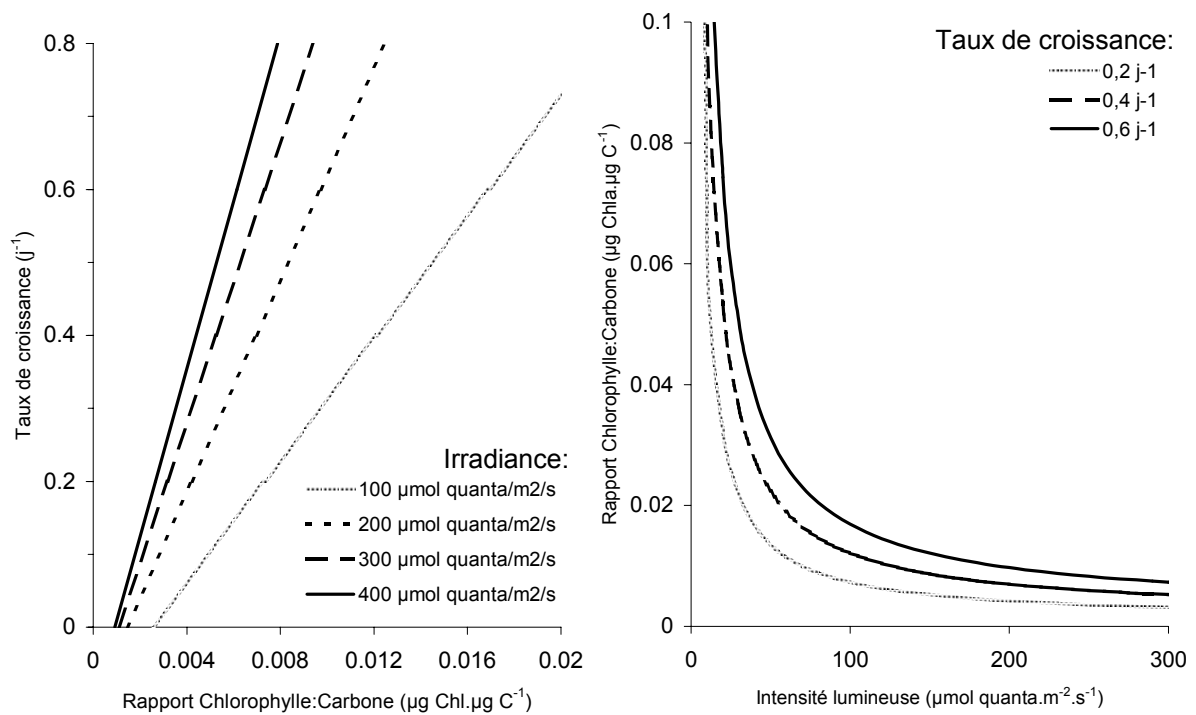


Figure IV-7: Evolution du rapport chlorophylle : carbone.

Graphe de gauche : relation linéaire croissante entre rapport Chl a :C et taux de croissance pour différentes intensités lumineuses.

Graphe de droite : pour un taux de croissance donné, évolution décroissante du quota pour une intensité lumineuse croissante.

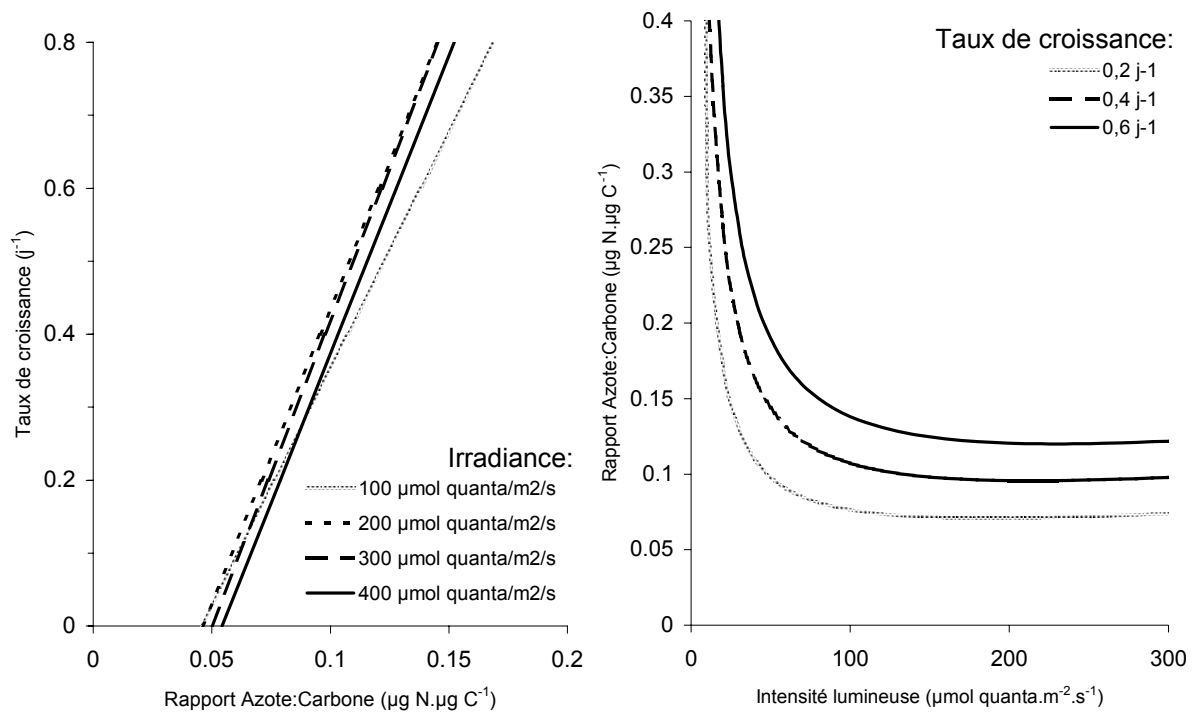


Figure IV-8: Evolution du rapport azote : carbone.

Graphe de gauche : relation linéaire croissante entre le rapport N:C et le taux de croissance pour différentes intensités lumineuses. Les droites se croisent, ce qui implique que le quota simulé n'évolue pas de façon monotone par rapport la lumière.

A droite : pour un taux de croissance donné, le quota commence par décroître avec l'intensité lumineuse puis augmente légèrement. Le point d'inflexion se situe à des intensités lumineuses de plus en plus élevées à mesure que la dilution (croissance) augmente.

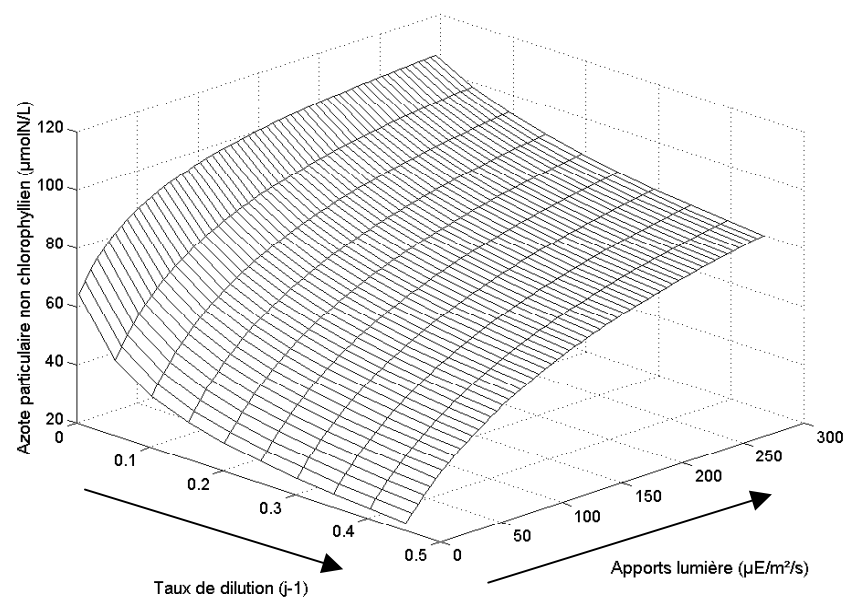


Figure IV-9: Variation théorique de l'azote particulaire non chlorophyllien à l'équilibre en fonction du taux de dilution et de l'intensité lumineuse. La synthèse de chlorophylle se réalise au à partir de ce pool d'azote. Les fortes intensités de part la photoadaptation nécessitent des besoins moindres en azote d'où une concentration qui augmente avec l'intensité lumineuse. A l'inverse. Le taux de synthèse de pigments étant proportionnels au taux de croissance, l'augmentation de la dilution accroît l'épuisement de cette forme d'azote.

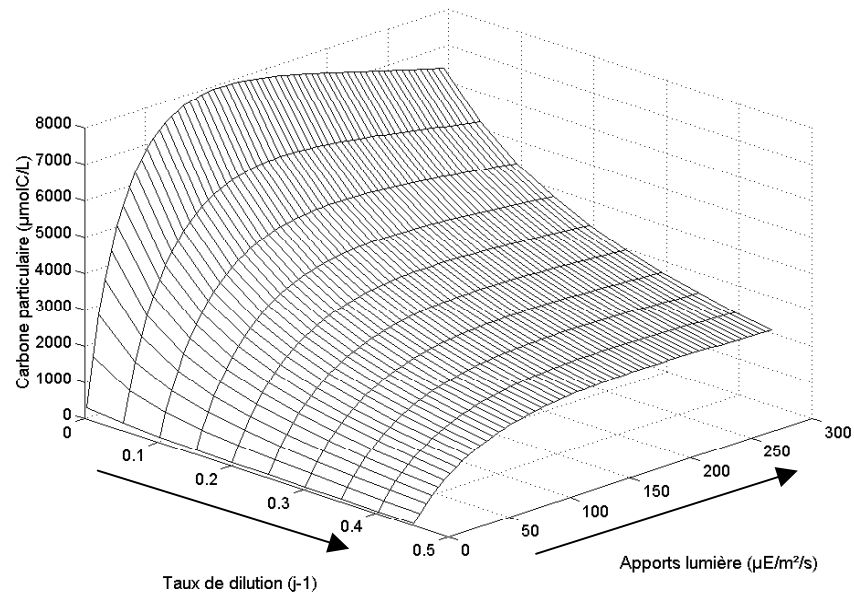


Figure IV-10: Variation théorique du carbone particulaire à l'équilibre en fonction du taux de dilution et de l'intensité lumineuse. La fixation du carbone augmente avec l'intensité lumineuse d'où des concentrations plus élevées aux fortes intensités. L'augmentation du taux de dilution se traduit généralement par une biomasse plus faible à mesure que l'on se rapproche de conditions de lessivage.

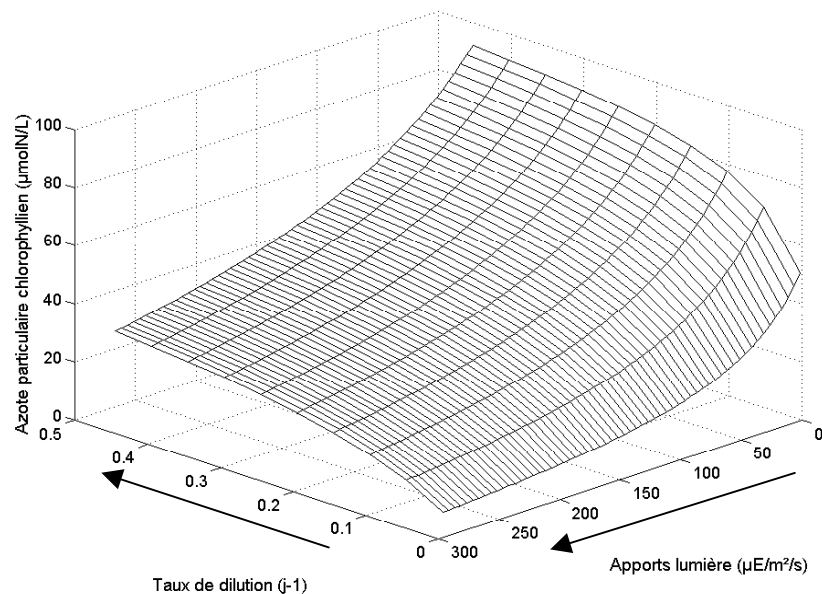


Figure IV-11: Variation théorique de l'azote particulaire chlorophyllien à l'équilibre en fonction du taux de dilution et de l'intensité lumineuse. Le phénomène de photoadaptation se traduit par une augmentation de la concentration en chlorophylle aux faibles intensités. La synthèse de pigments étant également proportionnelle à la croissance, la teneur en pigments chlorophylliens augmente avec le taux de dilution.

10).

$$C^* = \frac{a(I) \cdot k(I) \cdot (Sin - S^*)}{k(I) \cdot (d + \lambda) + (d + \beta)} \quad (IV.24)$$

La concentration en azote chlorophyllien, déduit de l'équation précédente et de la relation (IV.20), décroît avec l'intensité lumineuse, ce qui est en accord avec le phénomène de photoadaptation, et, fait remarquable, augmente avec le taux de dilution (figure IV-11):

$$L^* = \frac{k(I) \cdot (d + \lambda) \cdot (Sin - S^*)}{k(I) \cdot (d + \lambda) + (d + \beta)} \quad (IV.25)$$

L'addition des relations (IV.23) et (IV.25) donne la relation (IV.26) qui satisfait la conservation de la matière à l'équilibre :

$$N^* + L^* + S^* = Sin \quad (IV.26)$$

b) Synthèse du comportement qualitatif du modèle et de ses solutions à l'équilibre.

Les propriétés clés déduites des relations précédentes évoluent de façon conforme à la littérature dans le cas où S^* est très petit par rapport à Sin :

- La concentration en carbone augmente avec la lumière et décroît avec le taux de dilution (Geider *et al.* , 1998).
- La chlorophylle décroît avec l'intensité lumineuse en raison de la photoadaptation et augmente avec le taux de dilution (Laws & Bannister, 1980).
- Le rapport chlorophylle : carbone augmente avec le taux de dilution et décroît avec

l'intensité lumineuse (Chalup & Laws, 1990 ; Geider *et al.*, 1998 ; Falkowski & Raven, 1997).

- Le rapport azote : carbone augmente avec le taux de dilution et décroît avec la lumière (Chalup & Laws, 1990)

L'augmentation de la dilution a un effet positif sur la concentration en azote chlorophyllien et négatif sur la concentration en carbone. Ce comportement paradoxal mais observé en chimostat (Le Floch, 2002; Laws & Bannister, 1980) est complexe car il résulte à la fois d'apports accrus en sels nutritifs qui favorisent la croissance et de pertes accrues de la biomasse par la dilution.

L'intensité lumineuse agit de façon positive sur la concentration en carbone traduisant ainsi l'effet de la photosynthèse sur la production primaire. En revanche, la concentration en azote chlorophyllien est d'autant plus faible que l'intensité lumineuse est élevée ce qui est conforme au processus de photoadaptation. L'azote chlorophyllien et non chlorophyllien, de part leur interdépendance, évoluent de façon opposée et par conséquent, l'augmentation de l'intensité lumineuse a un rôle positif sur l'évolution du pool d'azote non chlorophyllien, l'azote des pigments dégradés étant remobilisé dans ce pool et la synthèse de pigments réduite.

Les expressions des quotas ont été déduites à partir de (IV.18) et (IV.19). Les solutions à l'équilibre de C^* et L^* sont dépendantes de l'expression de N^* . Celle-ci se déduit à l'aide de (IV.16) et (IV.17) et dépend elle-même de S^* et S_{in} . L'ordre de grandeur de S^* est généralement très faible par rapport à S_{in} pour que l'on puisse considérer ici que S^* est nul.

V. Choix d'une approche expérimentale.

Afin de tester les propriétés du modèle BioLOV dans des conditions de colimitation par la lumière et le nitrate, le dispositif expérimental utilisé dont nous disposons doit

permettre de recréer ces conditions. Le système de culture de Villefranche-sur-Mer est à l'image d'une « soufflerie expérimentale » en aéronautique dans laquelle le fuselage à éprouver correspondrait à notre population d'algues : si celle-ci ne répond pas de façon comparable aux simulations numériques de ce modèle, nous serons conduits à modifier sa structure. Ce type d'approche nécessite des expériences où les variations des facteurs environnementaux sont graduellement complexifiés afin de pouvoir identifier à chaque étape les éventuelles faiblesses du modèle.

V.1. Expérience 1 : Equilibre des variables de cultures obtenus pour différents niveaux d'intensité lumineuse et de taux de dilution.

Nous avons d'abord étudié le comportement de *Thalassiosira weissflogii* à l'équilibre pour différents flux d'azote et de lumière. Pour ce faire, quatre chémostats avec des taux de dilution différents ont été successivement exposés à des paliers d'intensité lumineuse décroissante, chaque palier étant maintenu suffisamment longtemps pour voir l'instauration d'un équilibre régi par le niveau de lumière en vigueur. Pour chaque combinaison azote/lumière, les variables de la culture qui sont pertinentes pour le modèle ont été mesurées.

Cette expérience est nécessaire pour tester le comportement du modèle à l'équilibre. En effet, la littérature foisonne de données explicitant les relations entre taux de dilution ou intensité lumineuse et les quotas cellulaires de carbone ou de chlorophylle, mais, paradoxalement, les relations équivalentes explicitées en fonction des concentrations de carbone ou de chlorophylle dans le milieu sont très rares. Par exemple, nous n'avons trouvé, à l'exception de Le Floc'h (2002), qu'une seule référence mentionnant clairement l'existence d'une relation entre le taux de dilution et la concentration de chlorophylle à l'équilibre pour *Thalassiosira weissflogii* (Laws & Bannister 1980). La distinction entre ces deux types de relation est d'importance car leur différence peut être exploitée pour contraindre un peu plus la validation du modèle.

V.2. Expérience 2 : Mouvements convectifs dans une colonne d'eau.

Dans le milieu marin, la lumière varie non seulement en fonction du cycle journalier et saisonnier, mais également en fonction de la profondeur. L'hydrodynamisme ayant une composante importante sur la verticale, une cellule phytoplanctonique est, dans les faits, exposée à un régime lumineux très différent d'un cycle diurne régulier, et ce, à une échelle de temps voisine de son temps caractéristique de doublement. Par exemple, en Atlantique nord, en hiver, si la couche euphotique est de l'ordre de 90m, la couche de mélange est de l'ordre de 150m ou plus, et plus généralement en dans l'océan global, elle peut être de l'ordre de plusieurs centaines de mètres (Wehde *et al.*, 2001). Différents auteurs (Platt *et al.*, 1983 ; Passow, 1991) ont pu montrer que les vitesses de sédimentation du phytoplancton varient de quelques mètres à plusieurs centaines de mètres par jour. Les conditions d'hydrodynamiques et la sédimentation du phytoplancton peuvent amener les cellules à séjourner dans l'obscurité pendant des durées supérieures à la journée. La question de la survie des algues dans ces conditions n'a pas encore de réponse claire (Wehde *et al.*, 2001). En effet, comment les cellules s'adaptent-elles à dans un environnement où les apports lumineux sont faibles et le nitrate abondant ? Quel est l'effet d'un éclairage irrégulier (modulé par la position des cellules dans la colonne d'eau) sur la division cellulaire ? Quel est le rôle de la lumière sur l'absorption du nitrate ?

Pour aborder ces questions, nous allons simuler en chémostat les flux de photons que recevrait une population de cellules phytoplanctoniques hypothétiquement entraînée par un mouvement convectif au sein d'une couche de mélange supérieure à 100m. Cette expérience doit permettre de valider le modèle par rapport à des observations obtenues dans un cadre de variation vraisemblable de lumière, sans limitation par le nitrate.

V.3. Expérience 3 : Cultures sous régimes lumineux périodique puis continu.

Cette expérience est complémentaire de la précédente. Nous considérons cette fois un environnement où la croissance, limitée par le nitrate, bénéficie de forts apports lumineux cycliques. Dans ce genre de situation, qu'en est-il de la synchronisation des cellules par rapport au cycle lumineux ? De plus, lorsque les algues sont acclimatées à des conditions environnementales cycliques, y-a-t'il une accoutumance à ces conditions et, le cas échéant, comment se maintient cette accoutumance lorsque la lumière devient constante ? En d'autres termes, photosynthèse, photoadaptation et division cellulaire dépendent-ils de contrôles endogènes circadiens ou des conditions environnementales que les cellules ont rencontrées les jours précédents. Différents auteurs (Chilshom & Brand, 1981 ; Chisholm & Costello, 1980 ; Post *et al.*, 1984) ont réalisé des expériences sous régime cyclique suivi d'un éclairage constant. Leurs travaux ne permettent pas de confirmer de façon claire l'existence d'un contrôle endogène circadien. Dans cette expérience, après une phase de croissance en lumière cyclique, nous allons également imposer un régime lumineux constant pour tenter de répondre à ces différentes questions.

Les cultures sous lumière cyclique ont déjà fait l'objet de nombreux travaux y compris au laboratoire d'Océanographie de Villefranche-sur-Mer (Bruyant *et al.*, 2001) pour l'étude de la photosynthèse. Outre les différentes informations apportées sur la photoadaptation, ce cadre expérimental permet ici de tester les réponses du modèle dans le cas d'un régime lumineux cyclique relativement simple. Grâce à la présence d'une phase sous lumière constante, nous pouvons ainsi comparer le comportement du modèle pour ces deux types d'éclairage dans le cadre d'une situation de limitation par le nitrate.

Ce jeu d'expériences permet de rassembler des observations acquises dans des conditions de croissance diversifiées (éclairage continu, cyclique, irrégulier et dans des conditions de croissance limitée ou non par le nitrate), et d'évaluer l'aptitude du modèle BioLOV à les reproduire.

Chapitre V

*Caractérisations expérimentale et théorique
des effets de la lumière et de la limitation en azote
sur des cultures à l'équilibre*

Chapitre V

Caractérisations expérimentale et théorique des effets de la lumière et de la limitation en azote sur des cultures à l'équilibre

I. INTRODUCTION.	69
II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL	70
III. EVOLUTION DES PRINCIPAUX PARAMETRES DE LA CULTURE.	71
III.1. SUIVI DES DESCRIPTEURS DE LA CULTURE.	71
III.2. EQUILIBRE DE LA BIOMASSE.	72
III.3. EVOLUTION DES EQUILIBRES DU CARBONE, DE L'AZOTE PARTICULAIRE ET DE LA CHLOROPHYLLE <i>a</i> .	73
<i>a) Azote particulaire total.</i>	73
<i>b) Chlorophylle a.</i>	74
<i>c) Carbone particulaire.</i>	74
<i>d) Quotas internes.</i>	75
III.4. APPORTS EXPERIMENTAUX POUR LA MODELISATION.	77
IV. IDENTIFICATION DES PARAMETRES DU MODELE.	78
IV.1. MISE EN EVIDENCE DE RELATIONS PERMETTANT L'IDENTIFICATION DE BioLOV.	79
<i>a) Identification à l'équilibre.</i>	79
<i>b) Identification en milieu fermé.</i>	83
IV.2. APPLICATION AUX DONNEES.	84
IV.3. OPTIMISATION.	85
V. COMPARAISON DES SIMULATIONS AUX OBSERVATIONS.	87
V.1. COMPARAISON DES ETATS D'EQUILIBRE DU MODELE AUX OBSERVATIONS.	87
V.2. PHASE DE BATCH.	88
VI. CONCLUSION.	89

I. Introduction.

Avant d'envisager des expériences sous lumière variable, il est nécessaire de connaître au préalable comment les descripteurs de la biomasse algale à l'état stable évoluent selon différents niveaux de limitations en azote et en lumière.

La littérature propose de nombreuses études relatives à la réponse physiologique des espèces aux variations de ces facteurs, mais les résultats expérimentaux sont généralement représentés au travers de concentrations cellulaires. Si ces quotas présentent un intérêt évident pour expliquer comment fonctionne la cellule, ils sont peu utilisés par les biogéochimistes qui s'intéressent plutôt à des biomasses rapportées à des volumes ou des surfaces d'eau de mer (mesures satellitales de chlorophylle de surface par exemple), et qui mesurent rarement des concentrations cellulaires. De même, les modèles biogéochimiques expriment des flux de matière dans le milieu marin pour des populations d'algues. A moins d'exprimer l'évolution du nombre de cellules présentes dans le milieu, il est difficile d'exprimer des grandeurs en unités cellulaires.

BioLOV est un modèle physiologique à vocation biogéochimique, qui a pour but d'exprimer la photoadaptation des cellules en fonction des limitations du milieu. Rares sont les expériences en chimostat où la chlorophylle et le carbone sont exprimées par unité de volume de culture. Laws et Bannister (1980) ont néanmoins publié des informations intéressantes sur les réponses de *Thalassiosira weissflogii* aux changements de dilution, de sels nutritifs limitants et d'intensité lumineuse mais cette étude ne permet pas à elle seule de tester et valider toutes les hypothèses de BioLOV. L'expérience présentée ici a pour but d'étudier les variations de biomasse à l'équilibre dans le chimostat pour différentes conditions de limitation par la lumière et le nitrate de façon à valider les hypothèses du modèle BioLOV. Il s'agit également d'acquérir suffisamment de données pour réaliser une identification des paramètres de ce modèle. La méthode employée a déjà été utilisée pour deux autres algues *Rhodomonas salina* et *Dunaliella tertiolecta* (Pawlowski, 2001 ; Pawlowski *et al.*, 2002). Des simulations dynamiques de BioLOV seront ensuite comparées aux séries temporelles de mesures issues de l'expérimentation en vue de valider ou d'invalidier le modèle.

Tableau V-1 : Conditions d'intensités lumineuses et de dilution au cours du temps dans les différents chémostats.

Chemostat	1	2	3	4
Dilution (j^{-1})	0,38	0,52	0,2	0,72
Temps (jours)	Intensité lumineuse ($\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)			
0,00	258	246	250	250
23,83	153	191	204	200
23,88	108	138	154	150
34,83	152	130	146	142
34,88	96	83	98	99
42,79	95	79	90	90
42,83	27	21	27	27
51,42	57	30	53	53

II. Protocole expérimental.

Cette expérience repose sur une approche classique qui consiste à observer la réponse des organismes à des facteurs limitants de leur milieu en régime statique. Nous considérons quatre chémostats soumis à des taux de dilution différents et constants au cours de l'expérience. Ces chémostats reçoivent la même intensité lumineuse mais celle-ci est progressivement réduite par paliers successifs au cours du temps.

Le choix de faire varier l'intensité lumineuse plutôt que la dilution est lié au problème de rétroaction de la biomasse sur le flux de photons reçu au centre de l'enceinte. En travaillant à dilution constante dans chaque chémostat, la biomasse ne varie qu'en fonction du flux de photons (alors que modifier la dilution affecte également les propriétés optiques du milieu). Cela ne signifie pas pour autant que la biomasse est identique d'un chémostat à l'autre, les niveaux à l'équilibre restant fonction du taux dilution maintenu fixe pour chaque chémostat durant toute la durée de l'expérience.

Strzepek et Price (2000) ont montré expérimentalement que le taux de croissance de *Thalassiosira weissflogii* atteignait son maximum à 20°C ($1,5 \text{ j}^{-1}$) entre 200 et 300 $\mu\text{mol quanta/m}^2/\text{s}$ en milieu de culture non limité en nitrate. A 17°C, ces auteurs trouvent un taux de croissance maximal de l'ordre de $0,9 \text{ j}^{-1}$. Latasa (1995) a obtenu respectivement des taux de croissance de 0,73 et $1,08 \text{ j}^{-1}$ sur des cultures en batch avec une concentration initiale en nitrate fixée à 1/20 celle du milieu F/2 (soit environ 44 μM) et soumises à 50 et 150 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Notre gamme d'intensité sera par conséquent la suivante : 250, 200, 150, 100, 50, 25 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Le taux de dilution sera fixé à 0,2 , 0,4 , 0,5 et $0,7 \text{ j}^{-1}$ (tableau V-1). Ce choix permet d'éviter des situations de lessivage tout en fournissant une gamme de dilutions suffisante pour permettre l'identification des paramètres du modèle. La concentration *Sin* en nitrate a été fixée à 45 μM . Cette valeur permet d'obtenir une biomasse suffisante pour l'ensemble des prélèvements. Juste après l'ensemencement, les cultures ne sont pas renouvelées ce qui permet d'obtenir des cinétiques d'absorption. Puis les dilutions respectives sont mises en place. Les cultures évoluent alors sous lumière constante à 250 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ vers une situation d'équilibre dans chaque chémostat. Une fois cet

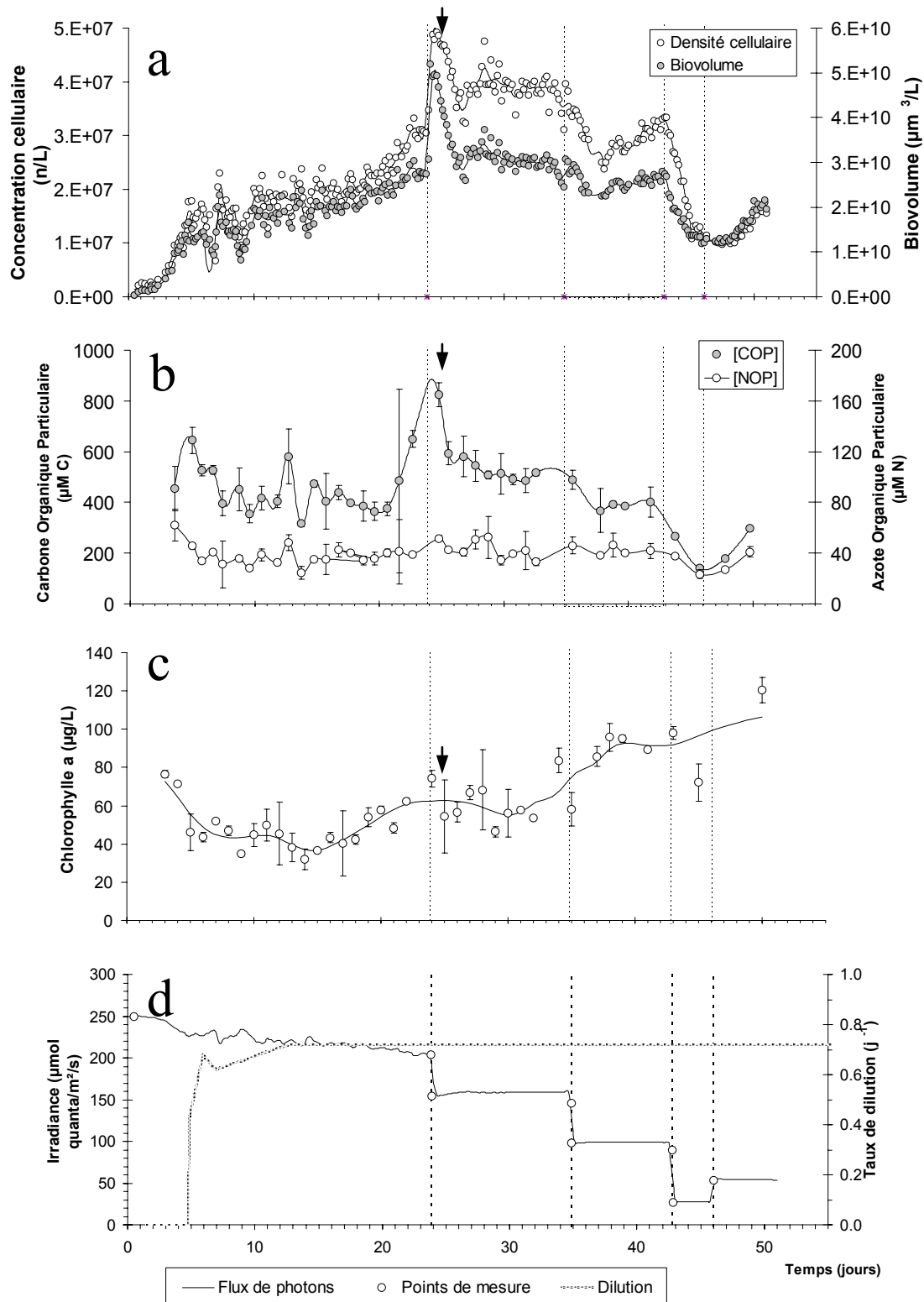


Figure V-1 : Evolution des différents descripteurs de la biomasse pour la culture soumise à la plus forte dilution. a) Biovolume et densité cellulaire ; b) Carbone et azote organiques particulaires ; c) Chlorophylle *a* ; d) Evolutions du flux de photons et du taux de dilution. Les points de mesure de la lumière réfèrent à vérification in vivo de l'intensité reçue par les algues, le flux de photons étant en dehors de ces vérifications estimé à partir de l'intensité mesurée au centre du dispositif expérimental. Les flèches indiquent le début de l'agitation manuelle des chémostats qui est réalisée ensuite 2 fois par jour jusqu'à la fin de l'expérience.

équilibre atteint et maintenu pendant quelques jours, les cultures sont soumises à un niveau inférieur d'intensité lumineuse jusqu'à l'obtention d'un nouvel équilibre, et ainsi de suite.

III. Evolution des principaux paramètres de la culture.

Nous allons caractériser ici les réponses des algues pour différents niveaux d'intensité lumineuse et de dilution en se focalisant sur les variables du modèle BioLOV.

III.1. Suivi des descripteurs de la culture.

Lors de cette expérience, les concentrations en nitrate, nitrite, l'intensité lumineuse, le nombre et la taille des cellules ont fait l'objet d'un suivi automatisé. Les mesures de chlorophylle *a*, carbone et azote particuliers ont été réalisées manuellement. Un point délicat de cette expérience a été de s'assurer que les équilibres avaient bien été atteints dans les différentes cultures avant de passer à un niveau de lumière inférieur. Le diamètre reste relativement constant ($11,62 \pm 0,92 \mu\text{m}$). Seules les mesures de nombre et/ou de biovolume peuvent donner des informations sur un équilibre lorsque ces grandeurs se stabilisent. Les équilibres atteints sous fortes intensités lumineuses sont difficiles à discriminer car les niveaux de biomasse varient peu du fait d'une activité photosynthétique proche du maximum. C'est ici le cas pour les intensités supérieures à $100 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Ces changements ont été d'autant plus difficiles à observer qu'une partie non négligeable des algues se déposait à l'interface air/eau de la culture et sur les parties émergées des parois des chimostats. Ces dépôts brunâtres nécessitaient une remise en suspension manuelle à intervalles réguliers, celle-ci s'accompagnant de changements significatifs du nombre et du biovolume. Nous avons dû tenir compte de ces variations pour évaluer si les cultures avaient atteint leur équilibre respectif. Nous considérerons que l'ensemble des mesures entre la fin du batch et avant le 25^{ième} jour sont sous-estimées (figure VI-1a). Ces

dépôts sont apparus après la disparition des nitrates, alors que le carbone particulaire continuait à augmenter de façon exponentielle et avant la décroissance de la biomasse et la transition de celle-ci vers le premier équilibre. Ce phénomène pourrait être lié à un relargage de TEP (Transparent Exopolymer Particles). Dans le milieu marin, les TEP augmentent à la fin des blooms lorsque la croissance du phytoplancton devient limitée par les nutriments (Engel, 2004 ; Mari & Burd, 1998 ; Corzo *et al.*, 2000 ; Engel *et al.*, 2002). La phase de batch présente des similitudes avec une phase de bloom, et l'apparition de ces dépôts en fin de batch ressemble à ce qu'il se passe en milieu marin sans pour autant que l'on puisse être catégorique sur la nature de ces dépôts.

En dépit de ces biais, la figure V-1a montre que les mesures de biovolume et du nombre de cellules sont des indicateurs relativement stables et peu bruités. La diminution de l'intensité lumineuse s'accompagne d'une décroissance de ces descripteurs à cause d'une photosynthèse réduite des cellules. Le carbone particulaire et la chlorophylle *a* (figures V-1b et V-1c) présentent des réponses bien différenciées pour chaque phase d'éclairement, avec une décroissance du carbone et une augmentation de la chlorophylle aux faibles intensités lumineuses. A l'opposé, la figure V-1b montre qu'après la phase de batch, il y a une forte stabilité de l'azote particulaire total et que le nitrate reste à un niveau indétectable par le technicon.

III.2. Equilibres de la biomasse.

A l'équilibre, la somme des concentrations d'élément limitant résiduel S^* et incorporé dans l'ensemble des cellules doit être égale à la concentration S_{in} . La quantité d'azote de la population de cellules est fonction de la biomasse algale X^* et du quota d'azote Q^* . On peut écrire que :

$$S_{in} = X^* \times Q^* + S^* \quad (V.1)$$

Tableau V-2 : Ensemble des concentrations mesurées des différents descripteurs de la biomasse à chaque équilibre pour des valeurs croissantes de dilution et d'intensité lumineuse.

Dilution (j ⁻¹)	Intensité lumineuse ($\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Carbone particulaire (μM)	Chlorophylle a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Azote particulaire total (μM)
0.2	27	389.1 $\pm$ 98.9	90.6 $\pm$ 1.4	31.7 $\pm$ 2.5
	53	523.2 $\pm$ 10.1	67.3 $\pm$ 2.1	33.5 $\pm$ 0.7
	90	542.4 $\pm$ 19.5	49.8 $\pm$ 2.0	34.1 $\pm$ 2.1
	146	574.4 $\pm$ 17.4	39.2 $\pm$ 13.9	33.3 $\pm$ 1.5
	204	613.1 $\pm$ 47.2	31.8 $\pm$ 8.8	36.9 $\pm$ 2.7
0.38	27	243.3 $\pm$ 6.0	115.3 $\pm$ 6.2	43.5 $\pm$ 0.6
	57	519.4 $\pm$ 32.9	102.4 $\pm$ 4.2	40.6 $\pm$ 0.9
	95	626.1 $\pm$ 32.2	90.0 $\pm$ 4.4	42.2 $\pm$ 4.2
	108	707.4 $\pm$ 65.9	71.9 $\pm$ 17.3	42.0 $\pm$ 5.1
	153	805.3 $\pm$ 47.4	53.9 $\pm$ 17.1	45.7 $\pm$ 5.9
0.51	21	299.4 $\pm$ 50.1	123.2 $\pm$ 6.2	42.9 $\pm$ 1.8
	30	432.5 $\pm$ 3.7	117.7 $\pm$ 2.3	42.2 $\pm$ 1.0
	79	540.0 $\pm$ 33.4	103.0 $\pm$ 7.7	47.3 $\pm$ 8.2
	130	543.7 $\pm$ 26.0	65.9 $\pm$ 7.4	44.7 $\pm$ 12.6
	191	622.5 $\pm$ 14.7	63.3 $\pm$ 4.8	43.0 $\pm$ 1.3
0.72	27	139.8 $\pm$ 3.0		27.1 $\pm$ 2.9
	53	296.7 $\pm$ 6.8	120.4 $\pm$ 6.5	41.0 $\pm$ 3.3
	90	393.8 $\pm$ 29.6	94.6 $\pm$ 4.4	40.8 $\pm$ 13.6
	146	489.6 $\pm$ 29.9	55.8 $\pm$ 6.4	40.9 $\pm$ 8.1
	204	622.1 $\pm$ 42.8	53.4 $\pm$ 9.7	39.9 $\pm$ 2.3

Par conséquent, $X^* = \frac{Sin - S^*}{Q^*}$. Cette relation implique que la biomasse à l'équilibre est proportionnelle à la concentration d'élément limitant *Sin* dans le milieu de renouvellement.

III.3. Evolution des équilibres du carbone, de l'azote particulaire et de la chlorophylle *a*.

a) Azote particulaire total.

L'azote particulaire est stable vis à vis de la lumière et de la dilution (tableau V-2). Il représente généralement plus de 90% de la quantité d'azote apportée par le renouvellement du milieu sauf dans le cas de la culture à $0,2 \text{ j}^{-1}$ où les concentrations avoisinent les 70% de la valeur de *Sin*, soit une différence d'environ $9 \text{ }\mu\text{M}$ de nitrate par rapport aux autres chémostats.

L'écart observé par rapport aux autres cultures pose la question des cultures faiblement renouvelées. Les différentes études qui ont été menées en chémostat par le passé dans les mêmes conditions de faibles dilutions, au Laboratoire d'Océanographie de Villefranche/Mer ont souvent soulevé ce problème (Sciandra & Ramani, 1994 ; Le Floch, 2002). Sciandra et Ramani ont suggéré une hypothèse alternative à la compétition pour le substrat. Ces auteurs ont montré que, pour des conditions de *Sin* élevées et de faible taux de dilution, le renouvellement du milieu par cellule peut diminuer en dessous d'un seuil critique pour l'espèce. Les cellules se retrouvent alors dans une situation proche de celle d'une culture fermée, où leurs produits d'excrétion peuvent devenir néfastes. La croissance n'est alors plus seulement limitée par une rétroaction de la population sur elle-même. Cette croissance limitée s'accompagne d'une biomasse inférieure à celle qui est prédite par les modèles. Une autre explication peut résider dans le fait qu'une croissance ralentie favorise une excrétion de carbone organique par les cellules, qui va constituer un substrat pour la croissance bactérienne. La compétition entre bactéries et algues peut expliquer le décalage entre *Sin* et

l'azote particulaire, les bactéries n'étant pas prises en compte dans les mesures d'azote particulaire.

b) Chlorophylle *a*.

La chlorophylle évolue de façon opposée aux autres descripteurs avec une augmentation de sa concentration aux forts taux de dilution (figure V-2) et aux faibles intensités lumineuses (figure V-3). Cette évolution est cohérente avec le fait que pour soutenir la croissance, il est nécessaire d'augmenter la fixation de carbone inorganique dissous et pour cela, la cellule doit disposer de plus de pigments pour assurer la photosynthèse. L'augmentation de la chlorophylle aux faibles intensités lumineuses répond au phénomène de photoadaptation.

c) Carbone particulaire.

Les mesures de carbone permettent de calculer la production nette dans le chimostat (figure V-4). En effet, le chimostat est un système qui convertit en permanence la matière inorganique dissoute en matière particulaire. L'équilibre est atteint quand la quantité produite par unité de volume et de temps est égale à la quantité de matière évacuée. Celle-ci est égale à $X^* \times d$. A l'équilibre cette quantité constitue la production nette de carbone.

Les concentrations à l'équilibre du carbone décroissent avec la dilution à l'exception de la culture diluée à $0,2 \text{ j}^{-1}$ (figure V-5). Différentes études (Burmaster, 1979 ; Rhee & Gotham, 1981 ; Sciandra & Ramani, 1994 ; Le Floch, 2002) ont mis en évidence, sur la base du modèle de Droop, la décroissance linéaire de l'abondance cellulaire. Bien que carbone et abondance cellulaire soit deux grandeurs différentes, les différents points d'équilibre confirment une tendance régulière à la décroissance avec l'augmentation de la dilution, hormis pour ceux issus du chimostat dilué à $0,2 \text{ j}^{-1}$. Si l'on se réfère aux études précédemment citées dans ce paragraphe, cela signifierait que ces équilibres sortent du cadre de la théorie du modèle de Droop. La sous-estimation du carbone particulaire n'est pas sans rappeler la

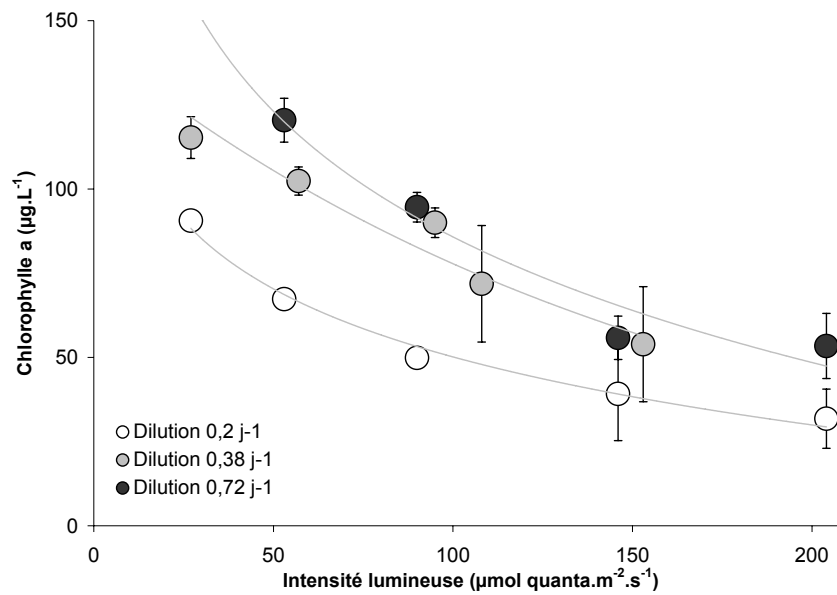


Figure V-2 : La chlorophylle décroît aux fortes intensités lumineuses en raison de la photoadaptation : pour soutenir la croissance aux faibles intensités lumineuses, il est nécessaire de disposer également de davantage de pigments d'où une synthèse accrue de ceux-ci lorsque la lumière décroît.

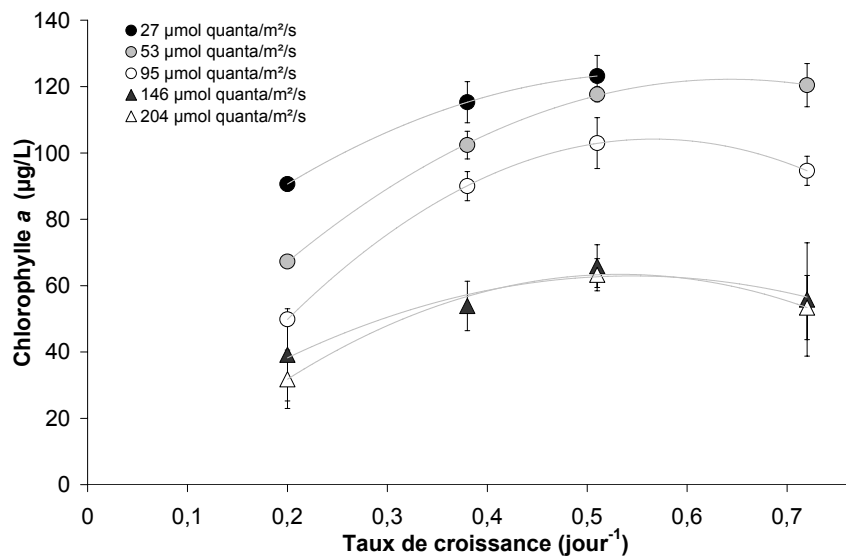


Figure V-3 : Evolution de la concentration en chlorophylle à l'équilibre selon le taux de croissance. La croissance est imposée par le taux de dilution et ne peut être maintenue que par une synthèse plus élevée de pigments. Cette synthèse est facilitée par le fait que le renouvellement accru du milieu aux fortes dilutions apporte également d'avantage de substrat. A dilution $0,7 \text{ j}^{-1}$, la biomasse tend à diminuer car on est proche d'un état de lessivage.

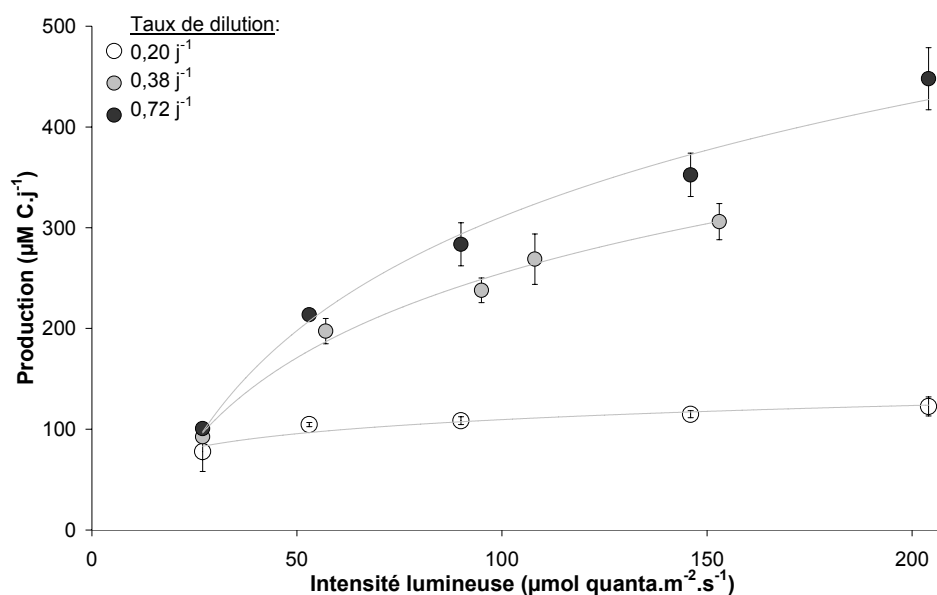


Figure V-4 : Evolution du taux de production de carbone particulaire selon l'intensité lumineuse et les différentes valeurs du taux de dilution. A l'équilibre, ce taux étant égale au taux de croissance, la production est une fonction croissante à la fois de l'intensité lumineuse et du taux de croissance.

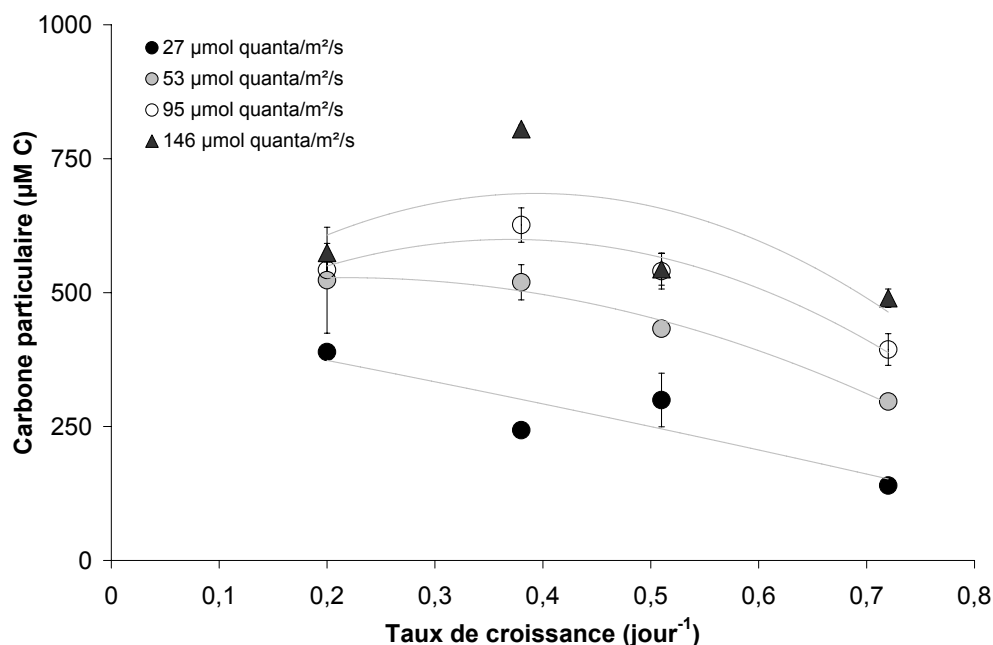


Figure V-5 : Les concentrations en carbone particulaire à l'équilibre décroissent avec le taux de dilution à l'exception du taux de dilution 0,2 j⁻¹ où la biomasse augmente jusqu'à un seuil. Cette décroissance est peut être liée à une compétition dans la culture entre biomasses bactériennes et algues. La biomasse décroît ensuite car l'augmentation du taux de croissance ne permet le maintien que d'un nombre de cellules de plus en plus limité.

remarque faite précédemment sur le déficit d'azote particulaire et laisse penser qu'il s'agit effectivement d'une situation de culture trop faiblement renouvelée.

La décroissance du carbone particulaire avec la dilution peut paraître paradoxale dans des conditions où les pigments photosynthétiques sont plus abondants et le taux de production lui-même plus élevé. La biomasse X^* s'exprimant à l'équilibre par la relation $X^* = \frac{Sin}{Q^*}$, la diminution de X^* est parallèle à une augmentation du quota Q^* , les apports en élément limitant étant accrus avec la dilution. La concentration cellulaire en azote augmentant avec la dilution, la croissance augmente, mais le bilan entre la quantité de matière produite et celle perdue par l'évacuation du trop plein se réduit à mesure que la dilution se rapproche du taux de croissance maximal.

d) Quotas.

De nombreuses études ont mis en évidence une relation entre le taux de croissance et la concentration interne d'un facteur limitant, suggérant ainsi que les caractéristiques des cellules sont des très bons indicateurs du degré de limitation par un nutriment (Goldman, 1980). Une façon d'exprimer la concentration interne d'un facteur limitant est de le rapporter soit à une quantité par cellule soit à une quantité par masse de carbone cellulaire. Afin de rester cohérent vis à vis des sorties du modèle BioLOV, ces rapports seront toujours exprimés par rapport à une masse de carbone particulaire.

Rapport Chlorophylle sur Carbone : Ce rapport est connu pour être fortement variable car il prend en compte les réponses adaptatives des algues aux conditions de lumière, température et nutriment et constitue un indicateur de l'état physiologique des algues (Geider, 1987). Myers et Graham (1971) ont montré que ce rapport est corrélé négativement avec le taux de croissance dans des conditions de lumière limitante, tandis que d'autres auteurs (Eppley et Renger, 1974 ; Laws et Wong, 1978) ont montré une corrélation positive dans le cas de limitations par les nutriments.

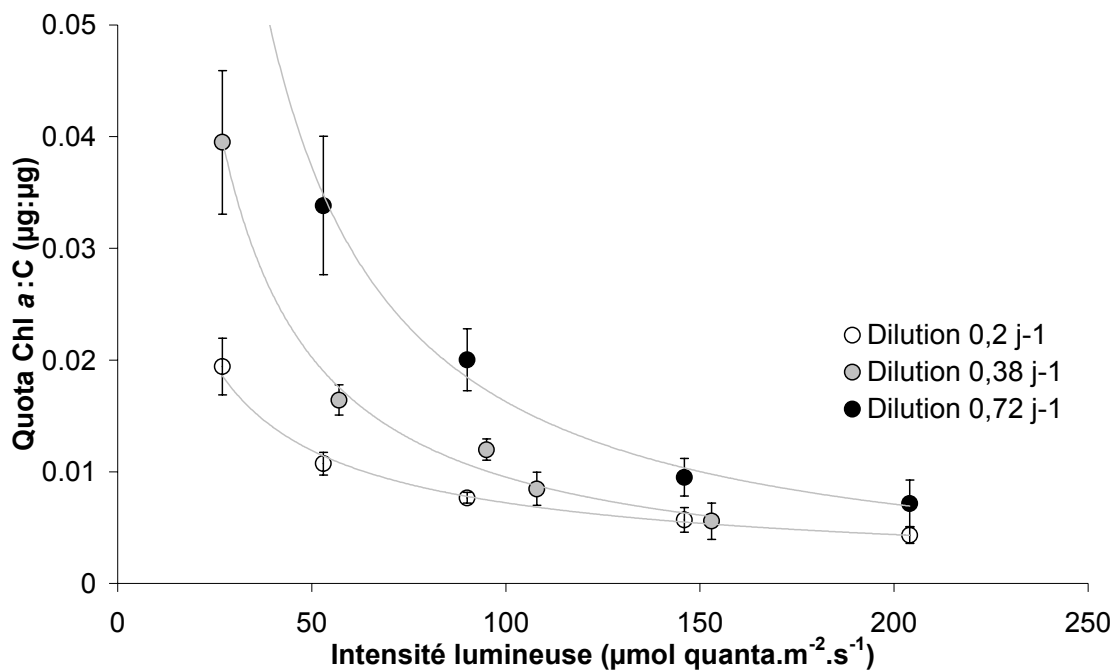


Figure V-6 : Le rapport Chlorophylle sur carbone à l'équilibre décroît avec l'intensité lumineuse et augmente avec le taux de dilution.

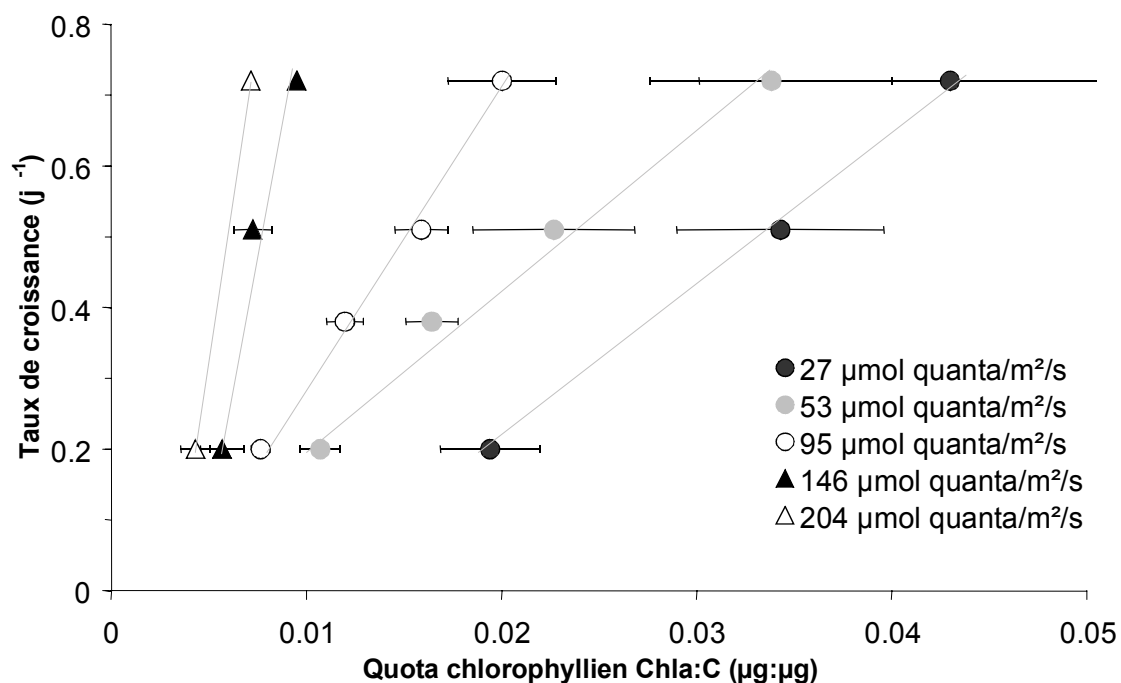


Figure V-7 : Variation du taux de croissance en fonction du rapport chlorophylle sur carbone pour différentes intensités lumineuses. La croissance et ce rapport sont liés par une relation proche de la linéarité. L'intensité lumineuse agit sur la pente et l'ordonnée à l'origine de cette relation.

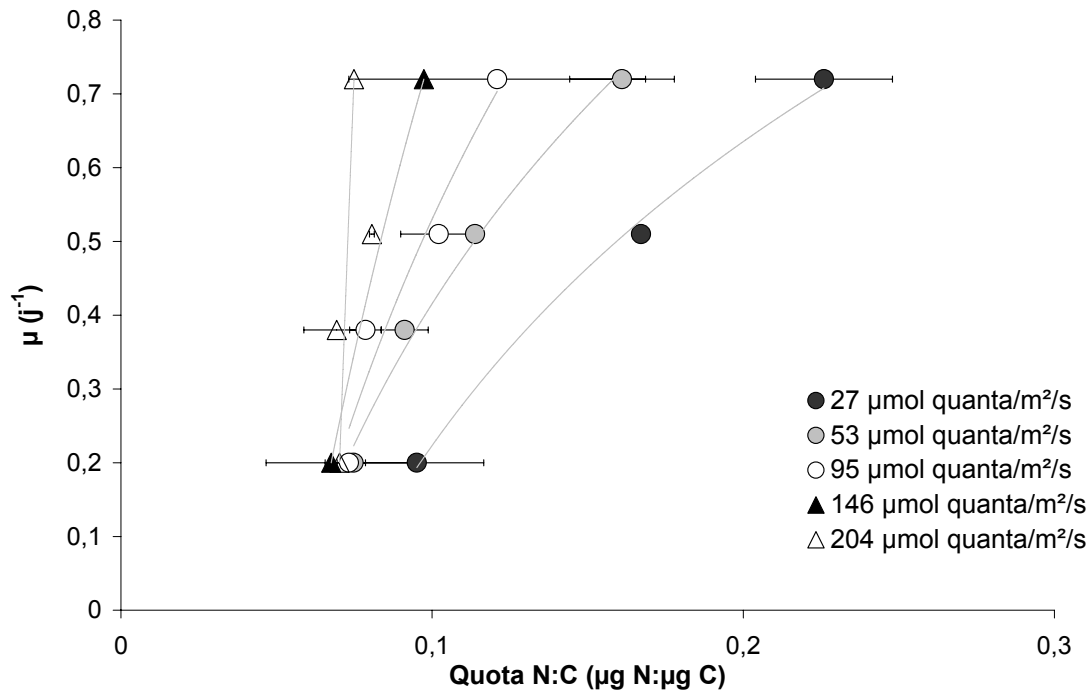


Figure V-8 : Variation du taux de croissance (qui à l'équilibre est égal au taux de dilution) en fonction du rapport N :C à l'équilibre pour différentes intensités lumineuses. Il est difficile de déterminer si la relation qui lie la croissance au quota interne est de nature linéaire ou non.

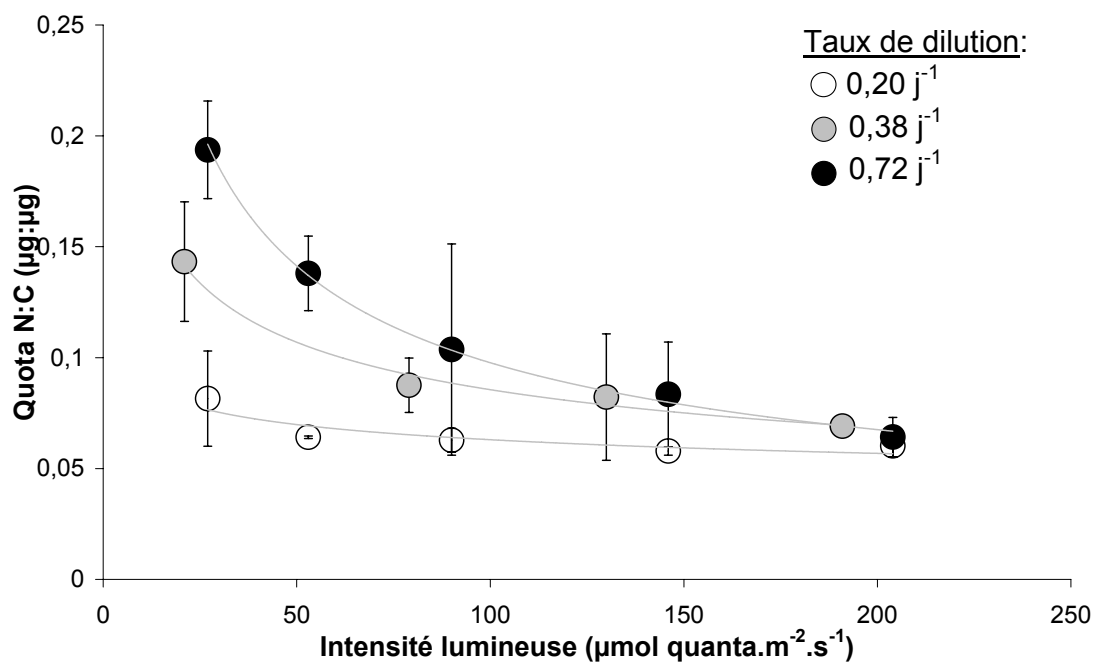


Figure V-9 : Le rapport N:C pour un taux de dilution donné décroît rapidement avec l'intensité lumineuse. Aux fortes intensités, ces rapports tendent pour chaque taux vers des valeurs très proches entre elles.

Tableau V-3 : Paramètres des régressions linéaires entre les taux de croissance et les quotas mesurés pour différentes intensités lumineuses. Les pentes augmentent fortement avec l'intensité lumineuse. Les valeurs négatives des ordonnées à l'origine permettent dans la plupart des cas d'estimer des quotas minima.

Intensité lumineuse ($\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Rapports Nt:C $\mu = a \times Q_{\text{Nt:C}} + b$				Rapports Chl a :C $\mu = a \times Q_{\text{Chl a:C}} + b$			
	pente <i>a</i>	ordonnée <i>b</i> à l'origine	r^2	N:C _{min} ($\mu\text{g}.\mu\text{g}^{-1}$)	pente <i>a</i>	ordonnée <i>b</i> à l'origine	r^2	Chl a :C _{min} ($\mu\text{g}.\mu\text{g}^{-1}$)
27	3,99	-0,17	0,996	0,043	21,93	0,23	0,992	-0,01049
53	5,73	-0,18	0,994	0,031	21,96	-0,01	0,995	0,00046
95	9,62	-0,45	0,937	0,047	41,23	-0,12	0,994	0,00291
146	17,45	-0,98	0,961	0,056	136,19	-0,57	0,986	0,00419
204	112,18	-7,68	0,997	0,068	183,63	-0,59	0,998	0,00321

Tableau V-4 : Evolution qualitative des descripteurs de la biomasse pour une augmentation du taux de dilution et de l'intensité lumineuse. La mention "n.r" signifie que le descripteur n'est pas représenté par le modèle.

Descripteurs	Augmentation de <i>d</i>		Augmentation de <i>I</i>	
	Observations	Modèle	Observations	Modèle
Cellules		n.r.		n.r.
Diamètre	non décelable	n.r.	non décelable	n.r.
Biovolume		n.r.		n.r.
Carbone				
Chlorophylle				
rapport Chl:C			  	
rapport Nt:C				

Nos estimations du rapport chlorophylle sur carbone varient de 0,005 et 0,04 $\mu\text{g Chl} \cdot \mu\text{g C}^{-1}$ (figure V-6). Les valeurs sont élevées aux faibles intensités lumineuses pour décroître rapidement et se stabiliser ensuite à mesure que l'intensité lumineuse augmente. Les résultats montrent que le taux de dilution agit positivement sur le quota. Cependant les effets de la dilution sont beaucoup plus marqués aux faibles intensités lumineuses. La figure V-7 représente l'évolution du taux de croissance en fonction des quotas observés pour différentes intensités lumineuses. Le faible nombre de points par série (3 à 4) ne permet pas d'affirmer si cette relation est linéaire.

Rapport Azote particulière sur Carbone : Le rapport azote particulière sur carbone varie entre 0,05 et 0,2 $\mu\text{g N} \cdot \mu\text{g C}^{-1}$. Le comportement de ce rapport est identique à celui observé pour la chlorophylle vis-à-vis de l'intensité lumineuse et de la dilution. Il est également difficile de dire si la relation entre le quota et le taux de croissance est linéaire ou non (figures V-8 et V-9).

Si l'on applique à chaque niveau de flux de photons une relation linéaire du type $\mu = a * Q + b$ (tableau V-3) où Q est un des rapports précédents, la pente a de chaque droite varie selon le flux de photons. D'une relation à l'autre, la pente diminue à mesure que l'intensité lumineuse décroît. Ceci implique que la variation du flux de nitrate dans d'une plage de dilutions donnée a plus d'effets sur les quotas à faible éclaircissement. Il s'agit du phénomène de compensation: aux faibles intensités, la demande en azote est forte pour assurer une production accrue de pigments photosynthétiques et, de ce fait, maintenir la croissance dans des conditions lumineuses moins favorables. Les ordonnées à l'origine ($\mu=0$) fournissent une estimation des quotas minima. Des représentations comparables ont été réalisées par d'autres auteurs (Chalup & Laws, 1990 ; Le Floch, 2002). Elles aboutissent également à des relations linéaires, mais ne permettent pas non plus d'estimer de façon fiable les quotas minima, la variabilité des mesures étant trop importante.

III.4. Apports expérimentaux pour la modélisation.

Le tableau V-4 résume les évolutions des descripteurs de la biomasse selon les variations de dilution et d'intensité lumineuse. Les sens de variation de ces descripteurs, qu'on regroupera sous le terme de « comportement qualitatif », sont reproduites par le modèle (voir chapitre IV pour les propriétés qualitatives du modèle): sa structure est donc cohérente avec la variation des différents descripteurs en fonction de l'intensité lumineuse et de la dilution.

Un des objectifs de cette expérience est également de fournir au modèle BioLOV un jeu de données pour différents couples d'intensité lumineuse et de dilution, permettant de procéder à l'identification des paramètres. En pratique, le modèle ne s'applique pas parfaitement, d'une part parce qu'il n'est qu'une vision simplifiée de la réalité, et d'autre part car des contraintes biologiques et expérimentales compliquent l'identification. Ces contraintes sont par exemple le cas des faibles taux de dilution où la biomasse en carbone est inférieure aux estimations, ou bien le fait que des dépôts de matière organique se forment sur les parois en début d'expérience. Ceci peut interférer avec les hypothèses mathématiques développées à partir des propriétés du modèle dans la mesure où celles-ci représentent une situation théorique idéale qui ne tient pas compte de ce genre de problème.

Ces problèmes expérimentaux doivent être pris en compte pour réaliser l'identification. Un brassage accru des chimostats pour éviter les dépôts a été réalisé au delà du 24^{ième} jour. Les dépôts sont apparus à la fin de la période de batch (5^{ème} jour). Nous éliminerons donc les données entre le 5^{ième} et 24^{ième} jour car elles risqueraient d'induire une sous-estimation de la biomasse dans les calculs. En ce qui concerne le déficit de biomasse pour le chimostat à $d=0,2 \text{ j}^{-1}$, il est intéressant de remarquer que les quotas n'évoluent pas de façon différente par rapport aux observations acquises pour les autres taux de dilution. Ceci suggère que les biais induits sont du même ordre de grandeur que ce soit pour l'azote particulaire, la chlorophylle et le carbone et que par conséquent, les rapports entre ces variables sont correctement représentés. L'identification repose sur la combinaison de rapports de ces descripteurs. Nous supposons donc que ces rapports sont utilisables pour l'identification et, de ce fait, les données du chimostat à $d=0,2 \text{ j}^{-1}$ sont conservées.

IV. Identification des paramètres du modèle.

La finalité de l'étape d'identification est de déterminer, à partir des données expérimentales, les valeurs des paramètres utilisés dans le modèle. L'identification que nous avons réalisée se décompose en 3 parties.

1) Dans un premier temps, il s'agit d'établir à partir des propriétés du modèle des relations simples qui combinent des variables d'état pour lesquelles il existe des mesures et les forçages du système (dilution et intensité lumineuse). Les mesures de nitrate, d'azote particulaire total (Nt), de carbone particulaire sont associées respectivement aux variables S , $(N+L)$ et C du modèle. Les concentrations en azote particulaire chlorophyllien (L) ne sont pas mesurées mais sont supposées proportionnelles à la concentration en chlorophylle a selon un facteur f ($L \approx f \cdot Chla$) qu'il faut également identifier. Il n'existe pas de mesure d'azote particulaire non chlorophyllien (N).

2) Ensuite, les relations précédemment établies sont vérifiées à l'aide des données expérimentales, ce qui permet également de réaliser une validation des propriétés structurelles du modèle et de déterminer progressivement l'ensemble des valeurs des paramètres.

3) Enfin, intervient une ultime étape d'optimisation des paramètres qui permet d'affiner leur valeurs, afin de réduire de façon optimale l'écart entre les données et les sorties des modèles dans le cadre de simulation dynamique. Cette étape est réalisée à l'aide d'une méthode d'ajustement automatique.

IV.1. Mise en évidence de relations permettant l'identification de BioLOV.

a) Identification à l'équilibre.

Les solutions du modèle à l'équilibre sont des fonctions complexes des termes d'intensité lumineuse I , et de dilution d . Il n'est donc pas simple d'utiliser directement ces solutions pour identifier les paramètres. Les rapports qui combinent L , C et $(N+L)$ aboutissent à des expressions plus simples mais qui demeurent néanmoins dépendantes de I et de d . Par exemple, le rapport chlorophylle sur carbone a pour expression :

$$\frac{Chla}{C} = \frac{(d + \lambda) \cdot (I + ki)}{f \cdot \alpha \cdot I} \quad (V.2)$$

Cette expression peut se réécrire différemment :

$$\frac{Chla}{C} = \frac{d}{f \cdot \alpha} + \frac{d \cdot ki}{f \cdot \alpha \cdot I} + \frac{\lambda}{f \cdot \lambda} + \frac{\lambda \cdot ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \quad (V.3)$$

Si l'on considère deux taux de dilution d_1 et d_2 et une intensité lumineuse I constante, nous obtenons les relations suivantes :

$$\left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_1} = d_1 \cdot \left(\frac{1}{f \cdot \alpha} + \frac{ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \right) + \frac{\lambda}{f \cdot \lambda} + \frac{\lambda \cdot ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \quad (V.4)$$

$$\left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_2} = d_2 \cdot \left(\frac{1}{f \cdot \alpha} + \frac{ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \right) + \frac{\lambda}{f \cdot \lambda} + \frac{\lambda \cdot ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \quad (V.5)$$

La différence entre (V.4) et (V.5) permet d'éliminer tous les termes qui ne contiennent pas d_1 ou d_2 :

$$\left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_1} - \left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_2} = (d_1 - d_2) \cdot \left(\frac{1}{f \cdot \alpha} + \frac{ki}{f \cdot \alpha \cdot I} \right) \quad (V.6)$$

En recombinaut les termes nous obtenons une relation linéaire dépendante de $1/I$:

$$\frac{\left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_1} - \left. \frac{Chla}{C} \right|_{d_2}}{d_1 - d_2} = \frac{1}{f \cdot \alpha} \cdot \left(ki \cdot \frac{1}{I} + 1 \right) \quad (V.7)$$

Les termes de la partie gauche de l'équation ($Chla$, C , d_1 , d_2) sont tous mesurés expérimentalement pour différentes valeurs de I . Il est donc possible en recombinaut ces données de calculer une régression linéaire entre ces termes et $1/I$. Le rapport entre les paramètres $\frac{ki}{f \cdot \alpha}$ et $\frac{1}{f \cdot \alpha}$, respectivement la pente et l'ordonnée à l'origine de la régression, permet ensuite de déterminer directement la valeur de ki et un terme $f \cdot \alpha$.

Cette méthode permet d'identifier ki pour cette relation. Il est possible de faire de même, toujours sur la base du rapport Chlorophylle/Carbone, en considérant cette fois deux intensités lumineuses et un taux de dilution constant. En appliquant la même méthode, on obtient finalement une nouvelle relation linéaire dépendante cette fois de la dilution. En recombinaut les données entre elles sur le même modèle et en appliquant ensuite une régression linéaire, il est possible de déterminer le terme de perte par respiration λ :

$$\frac{\left. \frac{Chla}{C} \right|_{I_1} - \left. \frac{Chla}{C} \right|_{I_2}}{\frac{1}{I_1} - \frac{1}{I_2}} = \frac{ki}{f \cdot \alpha} \cdot (d + \lambda) \quad \Rightarrow \lambda \quad (V.8)$$

La même méthode a été appliquée pour les autres rapports et permet d'identifier d'autres paramètres :

- Rapport Azote total/Chlorophylle. Ce rapport est issu de $\frac{L^*+N^*}{L^*}$ et a pour expression :

$$\frac{Nt}{Chla} = f \cdot \left(1 + \frac{(d + \beta)}{k(I) \cdot (d + \lambda)} \right) \quad (V.9)$$

Lorsque l'on considère deux taux de dilutions différents, nous obtenons par la différence des rapports une relation linéaire qui permet de déterminer kc :

$$\left(\frac{Nt}{Chla} \Big|_{d_1} - \frac{Nt}{Chla} \Big|_{d_2} \right) \cdot \frac{(d_1 + \lambda) \cdot (d_2 + \lambda)}{d_1 - d_2} = \frac{f \cdot (\lambda - \beta)}{kl} \cdot \left(\frac{1}{kc} \cdot I + 1 \right) \quad (V.10)$$

$$\begin{aligned} & kc \\ \Rightarrow & \frac{f \cdot \lambda}{kl} - \frac{f \cdot \beta}{kl} \end{aligned}$$

En considérant l'expression (V.9) en fonction de deux intensités lumineuses, nous obtenons la relation suivante :

$$\frac{\frac{Nt}{Chla} \Big|_{I_1} - \frac{Nt}{Chla} \Big|_{I_2}}{I_1 - I_2} = \frac{1}{d + \lambda} \cdot \frac{f}{kl \cdot kc} \cdot (d + \beta) \quad (V.11)$$

Cette relation ne permet pas de déterminer de paramètres. Pour simplifier la relation, il est nécessaire de poser comme hypothèse que λ est négligeable par rapport à d . Nous obtenons alors une relation qui permet de déterminer β :

$$\frac{\left. \frac{Nt}{Chla} \right|_{I_1} - \left. \frac{Nt}{Chla} \right|_{I_2}}{I_1 - I_2} \approx \frac{f}{kl \cdot kc} \cdot \left(\beta \cdot \frac{1}{d} + 1 \right) \Rightarrow \frac{\beta}{\frac{f}{kl \cdot kc}} \quad (V.12)$$

Le bruit sur les données a conduit à plusieurs reprises à une surestimation importante de β lors des identifications sur deux autres algues (Pawlowski, 2001). Nous utilisons donc une autre méthode pour déterminer ce paramètre en combinant les termes des relations linéaires (V.10) et (V.12).

- Rapport Azote total/Carbone. Il s'agit de l'expression du quota interne. Nous ne considérons ici que la relation résultante d'une différence de taux de dilution :

$$\frac{\left. \frac{Nt}{C} \right|_{d_1} - \left. \frac{Nt}{C} \right|_{d_2}}{(d_1 - d_2) \cdot \left(1 + \frac{ki}{I} \right)} = \frac{1}{\alpha \cdot kl \cdot kc} \cdot I + \frac{1}{\alpha} + \frac{1}{\alpha \cdot kl} \quad (V.13)$$

Cette relation nécessite d'utiliser la valeur kc pour déduire la valeur de $\frac{1}{\alpha \cdot kl}$. A partir de cette valeur et de l'expression (V.13), il est alors possible de déterminer α et kl . Connaissant α , le facteur f de conversion chlorophylle/azote chlorophyllien peut être identifié. Cette méthode permet de déduire les paramètres ki , kl , kc , f , α , β en recombinaison des données selon les relations précédemment décrites, et en appliquant ensuite des régressions linéaires à l'ensemble des points obtenus. Il est en théorie possible de déduire à partir des solutions à l'équilibre des relations qui permettraient de déterminer les valeurs des paramètres de l'absorption du nitrate, ρm et ks . Cependant ces relations ne peuvent être utilisées car les concentrations en nitrate sont inférieures au seuil de sensibilité de l'autoanalyseur Technicon. Il est nécessaire d'avoir recours à un autre cadre expérimental pour leur identification, en l'occurrence la situation de « batch ».

b) Identification en milieu fermé.

Il n'est possible de déterminer les paramètres d'absorption du nitrate que lorsque celui-ci est encore décelable dans le milieu. Le démarrage des cultures en batch remplit ici cette condition. Dans un premier temps, pour exprimer l'évolution du substrat et de la biomasse, nous posons l'hypothèse que la quantité de substrat est largement supérieure au paramètre ks et que, par conséquent, l'absorption et la croissance sont supposées maximales à des taux respectifs ρm et μm . Nous pouvons traduire la croissance exponentielle de la biomasse par les expressions suivantes :

$$\dot{C} = \mu m \cdot C \quad (V.14) \quad \text{soit} \quad C(t) = C_0 \cdot e^{\mu m \cdot t} \quad (V.15)$$

La variation du substrat, proportionnelle à la biomasse du phytoplancton, peut se définir comme une fonction de l'absorption (V.16):

$$\dot{S} = -\rho m \cdot C_0 \cdot e^{\mu m \cdot t} \quad (V.16) \quad \text{soit} \quad S(t) = S_0 - \frac{\rho m}{\mu m} \cdot C_0 \cdot e^{\mu m \cdot t} \quad (V.17)$$

soit

$$S(t) = S_0 - \frac{\rho m}{\mu m} \cdot C(t) \quad (V.18)$$

L'équation (V.15) peut également s'écrire autrement de façon à déterminer C_0 et μm :

$$\ln C(t) = \ln C_0 + \mu m \cdot t \quad (V.19)$$

Connaissant $S(t)$, $C(t)$, μm , il est alors possible de déterminer la valeur de ρm .

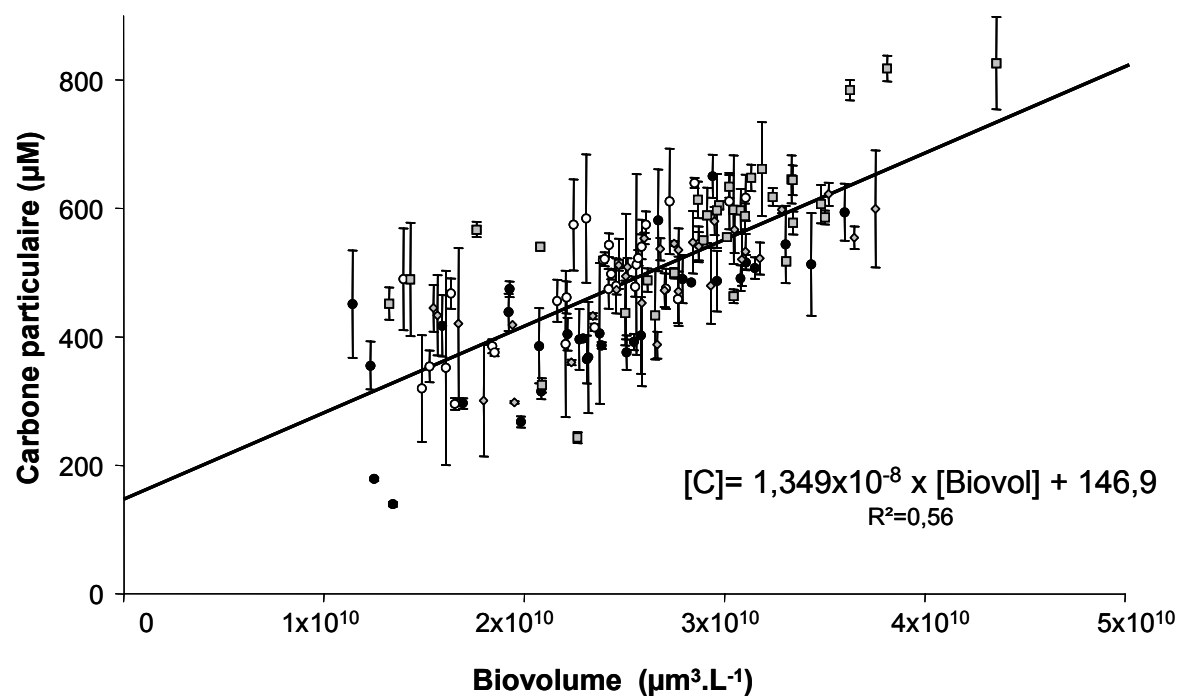


Figure V-10 : Relation linéaire entre le biovolume et le carbone organique particulaire. Les données représentées concernent l'ensemble des mesures acquises dans les quatre chémostats. Cette relation permet d'estimer lors de la phase de "batch" la concentration en carbone particulaire à partir du biovolume.

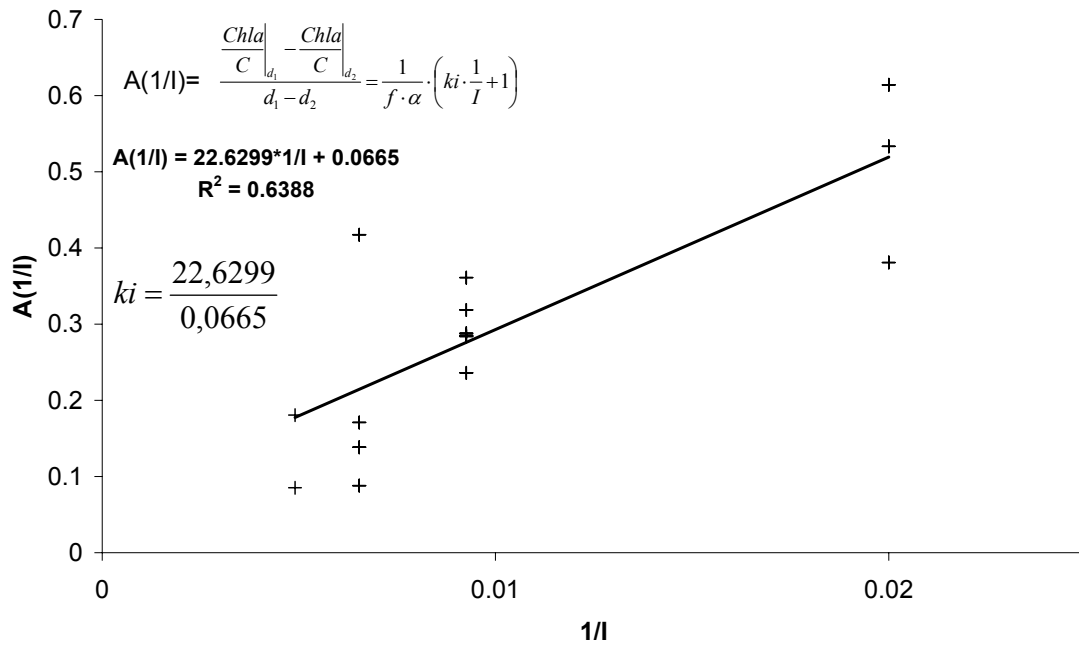


Figure V-11 : Identification du paramètre ki . La régression porte sur des différences de rapports Chlorophylle:Carbone selon le taux de dilution et sous la même intensité lumineuse. Le calcul donne une relation linéaire qui dépend de l'inverse de l'intensité lumineuse.

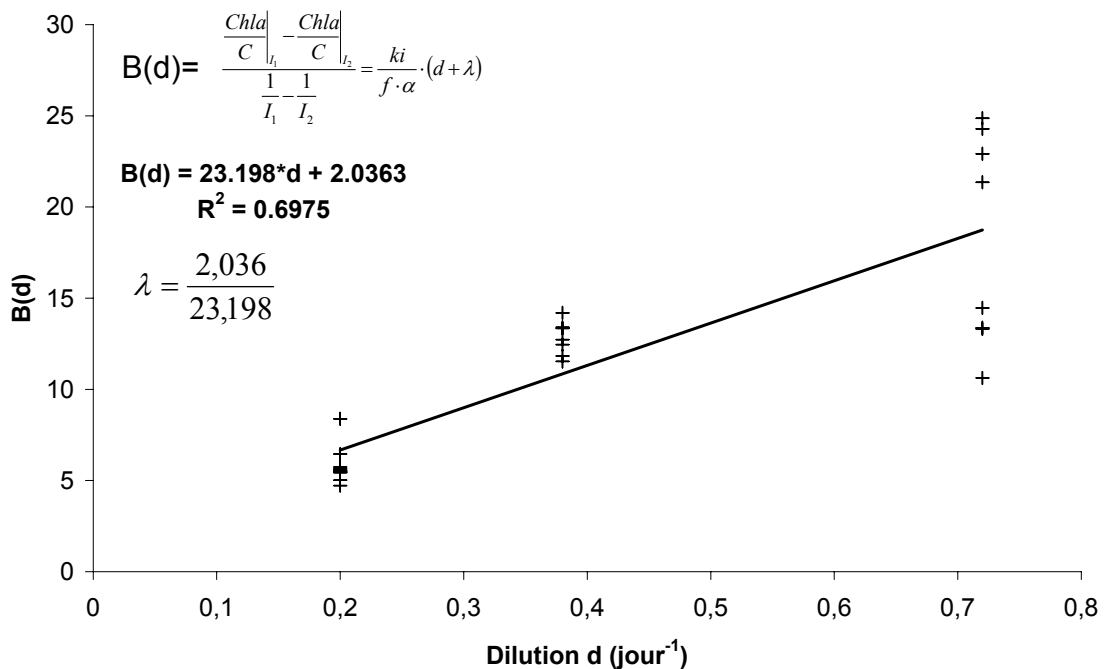


Figure V-12: Identification du paramètre λ . Les points expriment à nouveau des différences de rapports Chlorophylle:Carbone mais cette fois selon l'intensité lumineuse et à dilution fixe.

Tableau V-5 : Paramètres du modèle BioLOV avant et après optimisation.

Paramètre	Symbole	Unité	Valeur avant optimisation	Valeur après optimisation	% écart opti. / non optimisé
Absorption du nitrate					
Taux maximal d'absorption	ρm	$\mu\text{mol N} \cdot \mu\text{mol C}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$	0.186	0.187	0.54
Coefficient de demi saturation	ks	$\mu\text{mol N} \cdot \text{L}^{-1}$	1.168	1.277	9.33
Synthèse des pigments					
Taux de synthèse maximal	kl	s.d.	44.7	42.75	-4.36
Coefficient d'ajustement	kc	$\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	3.49	3.51	0.47
Photosynthèse					
Taux de photosynthèse maximal	α	$\mu\text{mol C} \cdot \mu\text{mol N}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$	84.4	84.7	0.33
coefficient de demi saturation	ki	$\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	340.0	563.14	65.65
Dégradation et respiration					
Taux de respiration	λ	j^{-1}	0.088	0.105	19.62
Taux de dégradation des pigments	β	j^{-1}	0.534	0.539	0.94
facteur de conversion					
azote chlorophyllien:Chl <i>a</i>	f	$\mu\text{mol N} \cdot \mu\text{g Chl} a^{-1}$	0.178	0.272	52.85

Tableau V-6 : Test de significativité des coefficients de corrélation des regressions appliquées aux données expérimentales pour identifier les paramètres. Il permet d'évaluer si ces relations s'appliquent correctement aux données expérimentales. Ce test nécessite le calcul d'une variable auxiliaire *tr* qui suit une loi de Student).

Paramètres	Relation	valeur	Coefficient de corrélation r^2	Nombre de points	$tr = \sqrt{\frac{r^2(n-2)}{1-r^2}}$	$t_{\alpha/2} \alpha=0,05$ (loi de Student)	Variables dépendantes ($tr > t_{\alpha/2}$)
ki		340.0	0.6389	28	6.78	2.056	OUI
λ		0.088	0.6975	49	10.41	2.012	OUI
kc		3.491	0.6202	35	7.34	2.035	OUI
β		0.534	0.1973	78	4.32	1.992	OUI
kl		44.70	0.0415	28	1.06	2.056	NON
α		84.42	0.0415	28	1.06	2.056	NON
f		0.178	0.0415	28	1.06	2.056	NON
ρm chemostat 1		0.037	0.6431	16	5.02	2.145	OUI
ρm chemostat 2		0.437	0.8863	12	8.83	2.228	OUI
ρm chemostat 3		0.122	0.9848	12	25.45	2.228	OUI
ρm chemostat 4		0.150	0.9504	9	11.58	2.365	OUI
ks chemostat 1		0.238	0.9949	38	83.80	2.028	OUI
ks chemostat 2		1.699	0.9883	67	74.10	2.385	OUI
ks chemostat 3		0.758	0.9725	32	32.57	2.042	OUI
ks chemostat 4		1.977	0.9891	18	38.10	2.12	OUI

Pour déterminer ks , nous considérons l'évolution du substrat en milieu fermé selon l'équation suivante :

$$\dot{S} = -\rho m \cdot \frac{S}{S + ks} \cdot C \quad (V.20)$$

Le seul élément inconnu de cette équation est $\dot{S}$ aux instants où il existe une mesure de S et C . Un lissage sur ces données est réalisé au moyen du logiciel TableCurve2D (AISN Software Inc.), puis le calcul de sa dérivée permet d'obtenir $\dot{S}$ et de déterminer ks .

Nous ne disposons pas de mesures de carbone particulaire pour la phase de batch. Diverses relations permettent d'exprimer une concentration en carbone organique particulaire à partir du biovolume (par exemple Mullin *et al.*, 1966 ; Strathmann, 1967 ; Moal *et al.*, 1987 ; Verity *et al.*, 1992 ; Menden-Deuer et Lessard, 2000). Le biovolume, qui représente le volume total occupé par les algues dans un volume de culture donné peut constituer un descripteur de la biomasse. Sciandra *et al.* (1997) ont pu mettre en évidence pour *Dunaliella tertiolecta* un rapport constant entre biovolume et carbone particulaire pour différentes limitations en nitrate. La figure V-10 montre pour *Thalassiosira weissflogii* un comportement semblable dans le cadre de cette expérience. Le biovolume est donc considéré comme un estimateur du carbone particulaire qui est utilisé ici pour déterminer ks .

IV.2. Application aux données.

Sur la base des concentrations à l'équilibre et des cinétiques obtenues en phase de batch, les données sont combinées entre elles selon les relations mises en évidence précédemment (voir pour exemple les figures V-11 et V-12) pour obtenir les valeurs de chaque paramètre (tableau V-5). Un test de significativité du coefficient de corrélation (r^2) (Scherrer, 1984) effectué pour chaque relation linéaire (tableau V-6) montre que, hormis dans le cas de la relation V.13 qui permet de déterminer α , kl et f , les modèles linéaires utilisés pour identifier les paramètres s'appliquent relativement bien aux données. Les relations

Tableau V-7 : Taux de croissance maximal et paramètres d'absorption obtenus pour chaque culture à partir des données expérimentales acquises durant la phase de "batch".

Chémostat	μ_m (j ⁻¹)	ρ_m ($\mu\text{mol N} \cdot \mu\text{mol C}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$)	k_s ($\mu\text{mol N} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	0.30	0.037	0.238
2	0.47	0.437	1.699
3	0.45	0.122	0.758
4	0.55	0.150	1.977
moyenne	0.44	0.186	1.168
écart-type	0.10	0.174	0.810
CV %	23.4	93.2	69.4

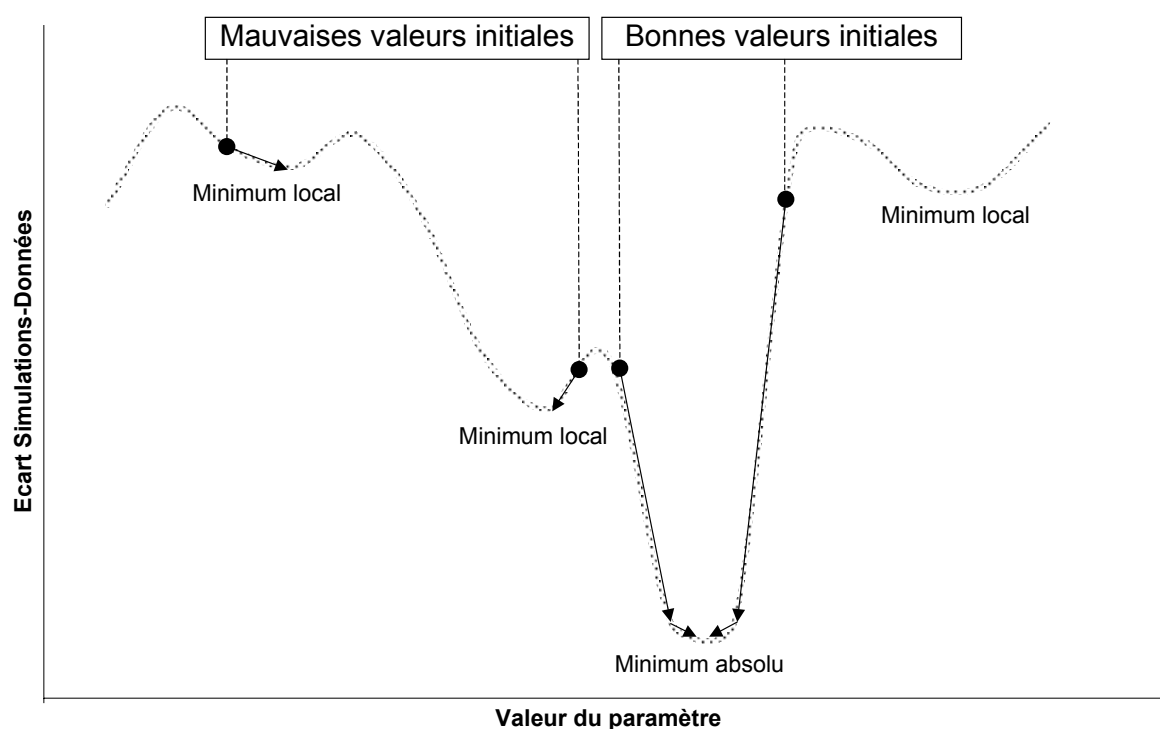


Figure V-13 : Importance du choix des paramètres initiaux lors de l'optimisation. Lorsque de mauvaises valeurs initiales sont utilisées, l'algorithme converge vers des minima locaux ce qui biaise l'optimisation de l'identification.

théoriques évoluent qualitativement de la même manière que les points obtenus à partir des observations, que ce soit en fonction du taux de dilution ou de l'intensité lumineuse. Ceci constitue en soi un argument fort pour valider structurellement le modèle à l'équilibre.

Néanmoins, les relations précédemment établies ne s'ajustent pas toujours parfaitement aux données, principalement pour deux raisons. D'une part, le modèle est une représentation approchée de la réalité. D'autre part, les données peuvent présenter un bruit expérimental significatif dont l'effet s'amplifie lorsqu'elles sont combinées dans les calculs d'identification. La conséquence de ceci se traduit dans certains cas par des points très dispersés. Ce phénomène est en partie lié aux méthodes mathématiques utilisées qui reposent ici sur des calculs de différences ou de rapports de données. La dispersion des points, lorsqu'elle est marquée, ne semble pas liée à des points acquis dans des conditions particulières d'intensité lumineuse ou de dilution. Les causes expérimentales responsables de ces points marginaux n'ont pas pu être identifiées.

La situation de « batch » permet d'acquérir des informations sur la cinétique d'absorption du nitrate au sein de chaque culture, et fournit également une estimation du taux de croissance maximal à l'intensité lumineuse considérée (tableau V-7). L'examen de ce tableau montre un taux de croissance compris entre 0,30 et 0,55 j^{-1} . Les paramètres d'absorption présentent une forte variabilité. Les extrema ne semblent pas être liés à des cultures particulières et, par conséquent, à défaut de pouvoir exclure certaines valeurs, nous considérons l'ensemble des cinétiques des différents chémostats pour calculer les valeurs moyennes des paramètres d'absorption.

IV.3. Optimisation.

Cette étape a pour but de trouver le jeu de paramètres qui minimise l'écart entre des séries chronologiques d'observations et des simulations dynamiques. On peut légitimement se poser la question de l'intérêt des étapes précédentes quand une méthode d'ajustement automatique du modèle aux données pourrait *a priori* déterminer les valeurs des paramètres.

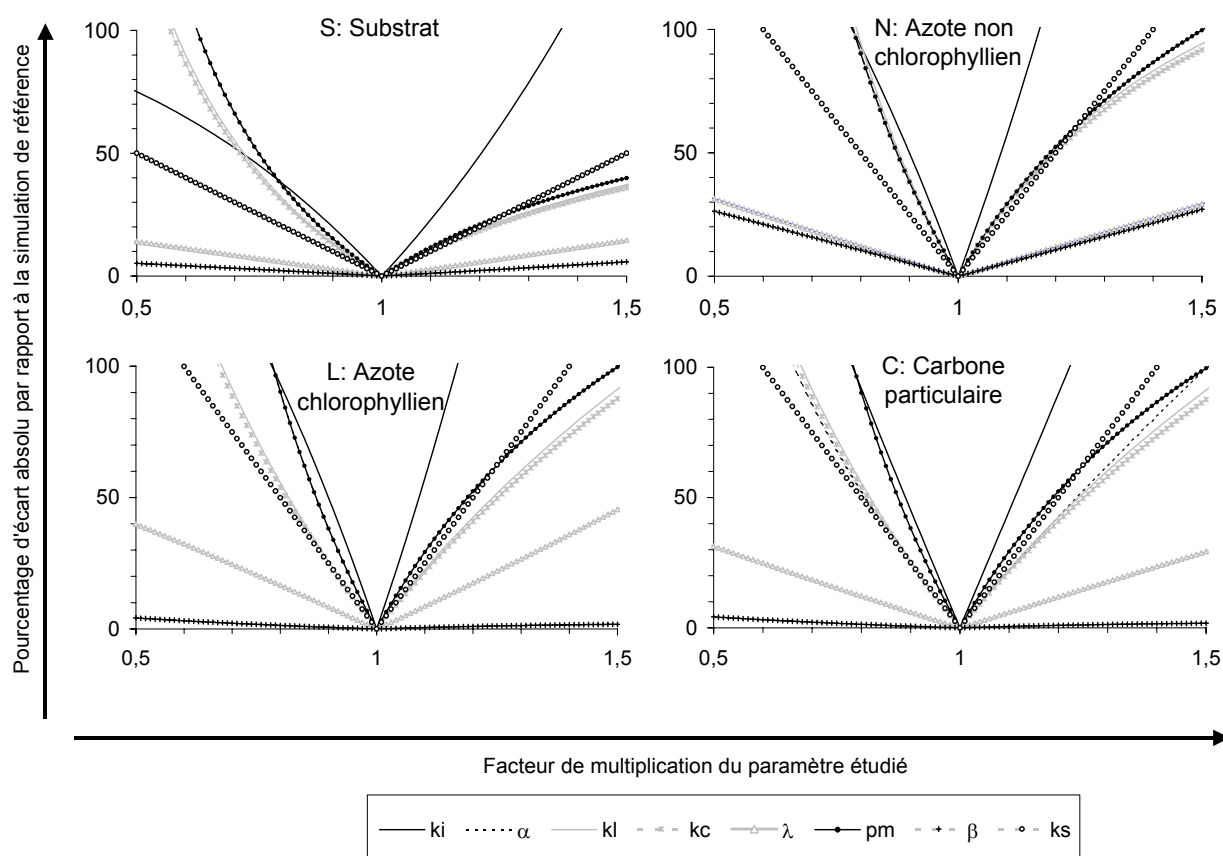


Figure V-14 : Analyse de sensibilité sur les paramètres du modèle. Chaque paramètre varie entre 50 et 150% de sa valeur, et l'écart dans les sorties du modèle par rapport à la simulation de référence est mesuré ce qui permet de mettre en évidence les paramètres dont les valeurs ont un impact particulièrement important sur les sorties du modèle. Les deux paramètres les plus sensibles sont ici k_i et p_m .

Ces méthodes reposent sur la détermination d'un critère des moindres carrés ordinaires (MCO) :

$$MCO = \sum_{i=1}^n (\text{var}_{t_i} - \text{obs}_{t_i})^2 \quad (\text{V.21})$$

où var_{t_i} représente la quantité simulée et obs_{t_i} une observation à l'instant t_i . Cependant, l'évolution des MCO parcourt, pour l'ensemble des paramètres, un espace parsemé de minima locaux dont l'un correspond au plus petit écart entre les simulations et les données (figure V-13). Le choix des valeurs initiales des paramètres est donc capital afin que l'algorithme ne converge pas sur un minimum local. Une identification préalable des paramètres permet de diminuer ce risque en fournissant des valeurs initiales proches des minima recherchés.

D'autre part, les méthodes d'ajustement ne permettent pas d'estimer simultanément beaucoup de paramètres. En outre, la précision de chaque paramètre n'a pas le même impact sur les sorties du modèle. Il convient donc de procéder à l'ajustement par étape. Pour cela, une analyse de sensibilité (figure V-14) est réalisée pour chaque paramètre et chaque variable afin de classer les paramètres selon l'importance de leurs effets sur les sorties. Les résultats montrent que ki est le plus sensible suivi de ρm , α , kl , kc , λ , ks et β . Nous ajustons donc les paramètres dans cet ordre. Le paramètre f n'est pas considéré comme un paramètre « fonctionnel » du modèle. Il est cependant le premier à être ajusté afin de favoriser la prise en compte des données de chlorophylle a dans la comparaison des simulations aux données.

A l'issue de l'optimisation, les paramètres sont relativement proches des valeurs initiales (tableau V-6), à l'exception de ki , λ et f . Il convient de signaler que ki et λ sont estimés à partir des mêmes rapports chlorophylle a sur carbone, ce qui suggère peut-être une mauvaise adéquation entre la relation utilisée et les données expérimentales. Les différences observées pour f sont peut-être également liées à cette relation. Cette étape réalisée, nous pouvons juger de la validité quantitative du modèle en comparant les simulations dynamiques aux observations.

Tableau V-8 : Conditions initiales du modèle pour les différents chimostats. L'éclairement et le taux de dilution correspondent aux valeurs mesurées tout au long de l'expérience pour chaque chimostat.

Chimostat	S ₀ μM N	N ₀ μM N	L ₀ μM N	C ₀ μM C
1	76	0.3	6.4	290
2	76	0.3	5.3	290
3	76	0.3	6.6	290
4	76	0.3	5.5	290

Chimostat	1	2	3	4
Dilution (j ⁻¹)	0,38	0,52	0,2	0,72

Temps (jours)	Intensité lumineuse (μmol quanta.m ⁻² .s ⁻¹)			
0,00	258	246	250	250
23,83	153	191	204	200
23,88	108	138	154	150
34,83	152	130	146	142
34,88	96	83	98	99
42,79	95	79	90	90
42,83	27	21	27	27
51,42	57	30	53	53

V. Comparaison des simulations aux observations.

Une fois identifié, le modèle devrait reproduire les séries chronologiques de mesures acquises lors des expériences. Dans le cas contraire, les causes peuvent être des paramètres mal identifiés, des défauts structurels du modèle ou des processus importants qui n'auraient pas été pris en compte. Dans la mesure où une partie des données a déjà servi à l'identification des paramètres, la comparaison avec les observations ne constitue pas une véritable validation au sens strict, cette étape n'étant réalisée qu'en comparant des simulations à un jeu de données qui n'a pas servi à l'identification des paramètres. Cependant, cette étape a pour but de vérifier que le modèle évolue de façon cohérente par rapport aux observations.

Les conditions initiales des simulations (tableau V-8) ont été estimées à partir des données expérimentales recueillies lors de la phase de batch, en l'occurrence les premiers points de mesure, et sur la base des grandeurs connues au moment de la mise en culture (biovolume, concentration en substrat dans l'inoculum, estimation préalable de la chlorophylle *a*). Les équations différentielles du modèle sont intégrées par la méthode de Runge-Kutta d'ordre 2 à pas variable. Les forçages (lumière et dilution) appliqués au modèle sont ceux de l'expérience. Les simulations dynamiques sont représentées sur les figures V-15 à V-18.

V.1. Comparaison des états d'équilibre du modèle aux observations.

Les simulations dynamiques montrent que, dans l'ensemble, les variables évoluent qualitativement dans le même sens que les observations (figure V-19). Cependant, les simulations dynamiques sous-estiment la concentration en carbone particulaire. La différence entre simulations et mesures s'accroît pour les taux de dilution importants. Elle s'accroît également par rapport au facteur lumière jusqu'à $100 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ puis demeure relativement constante. Les solutions à l'équilibre reproduisent également correctement

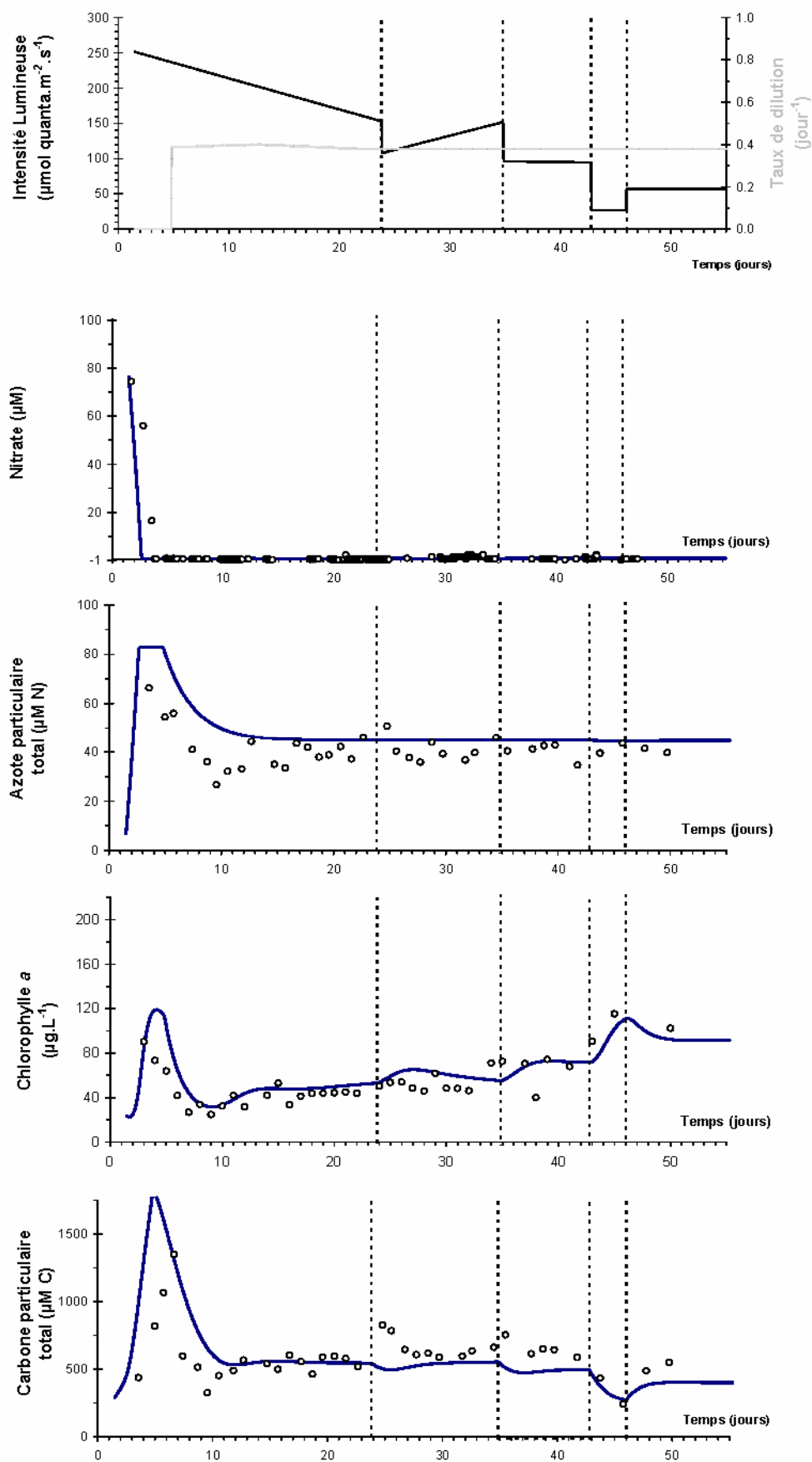


Figure V-15 : Confrontation du modèle au données pour le chémostat 1.

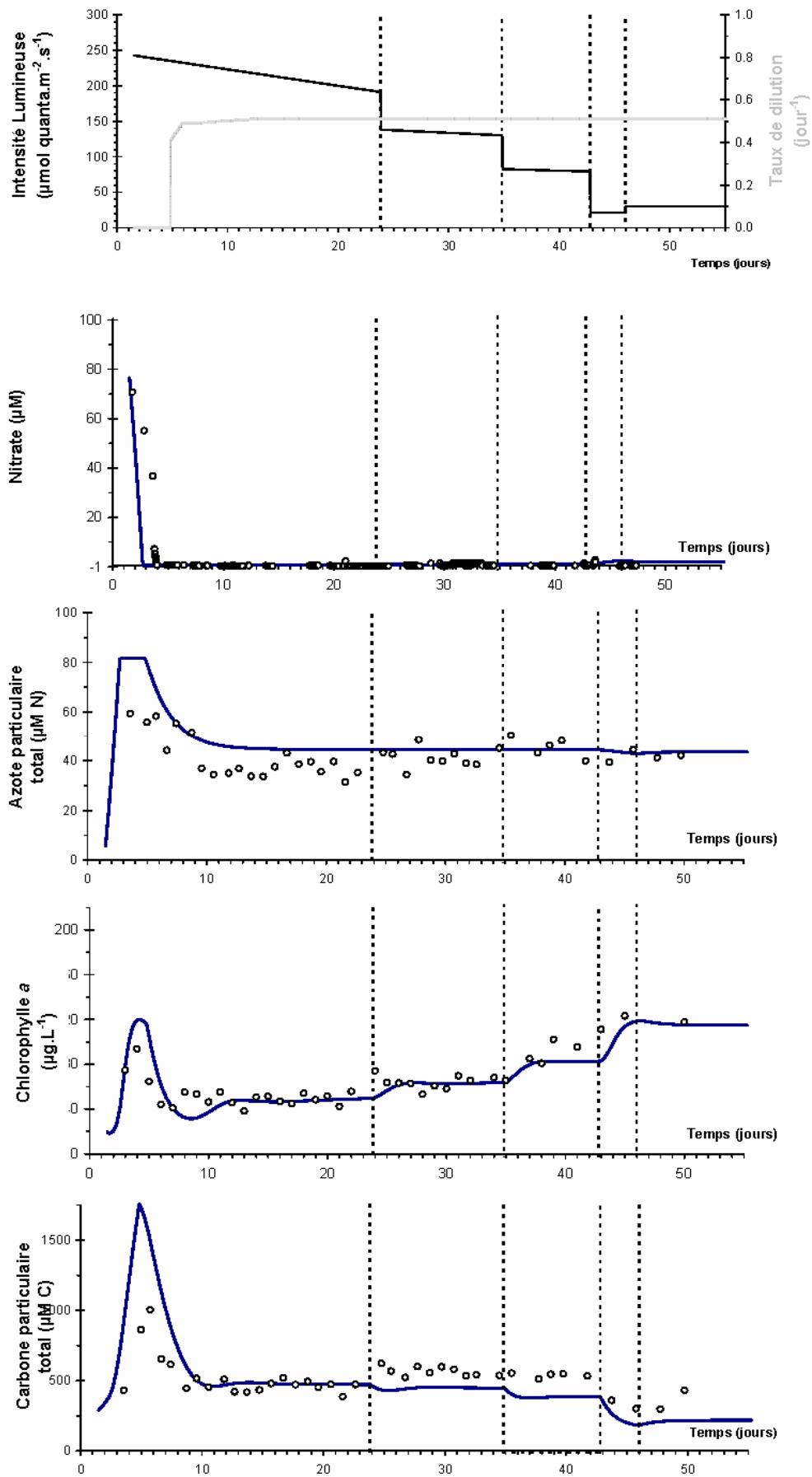


Figure V-16 : Confrontation du modèle au données pour le chimostat 2.

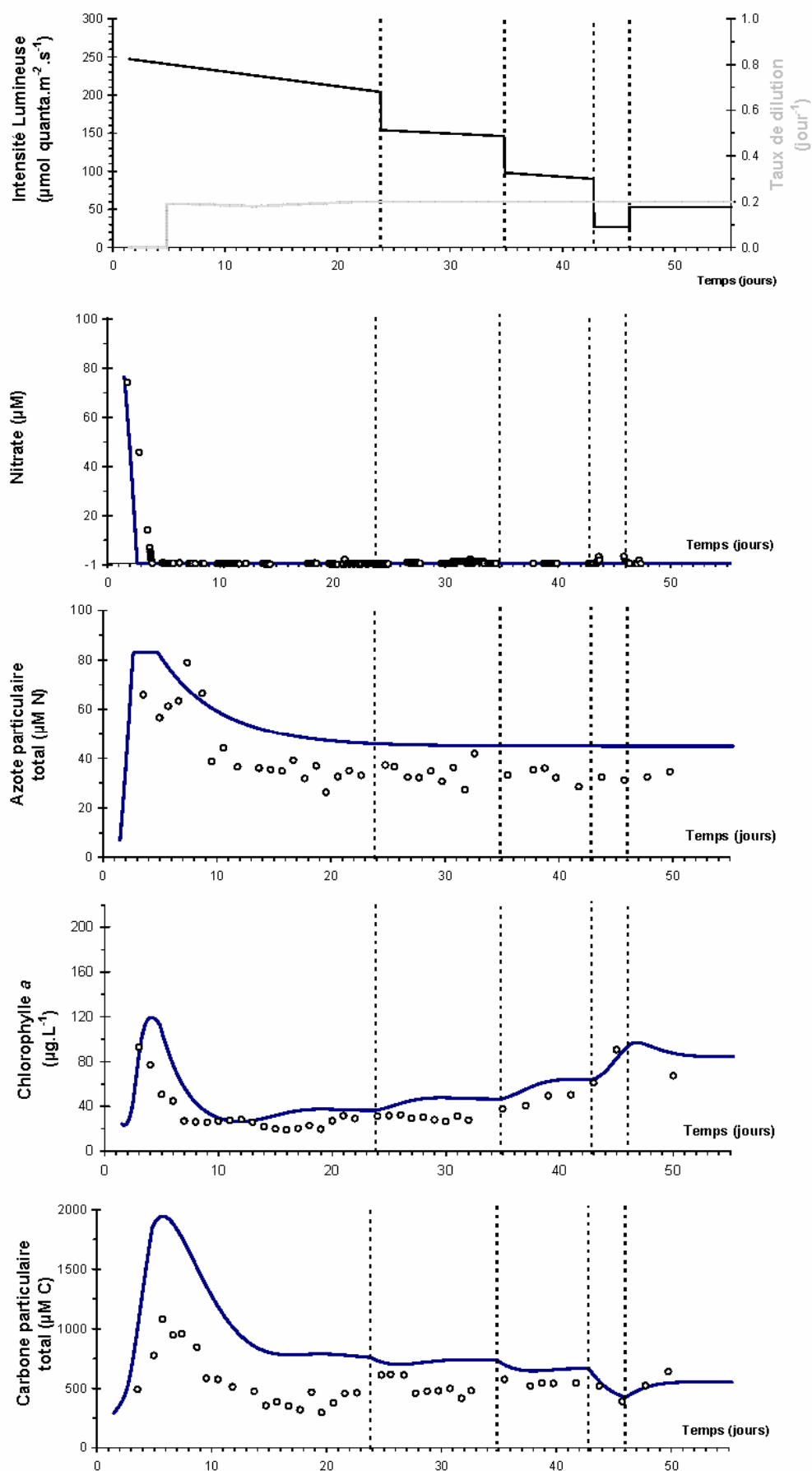


Figure V-17 : Confrontation du modèle au données pour le chimostat 3.

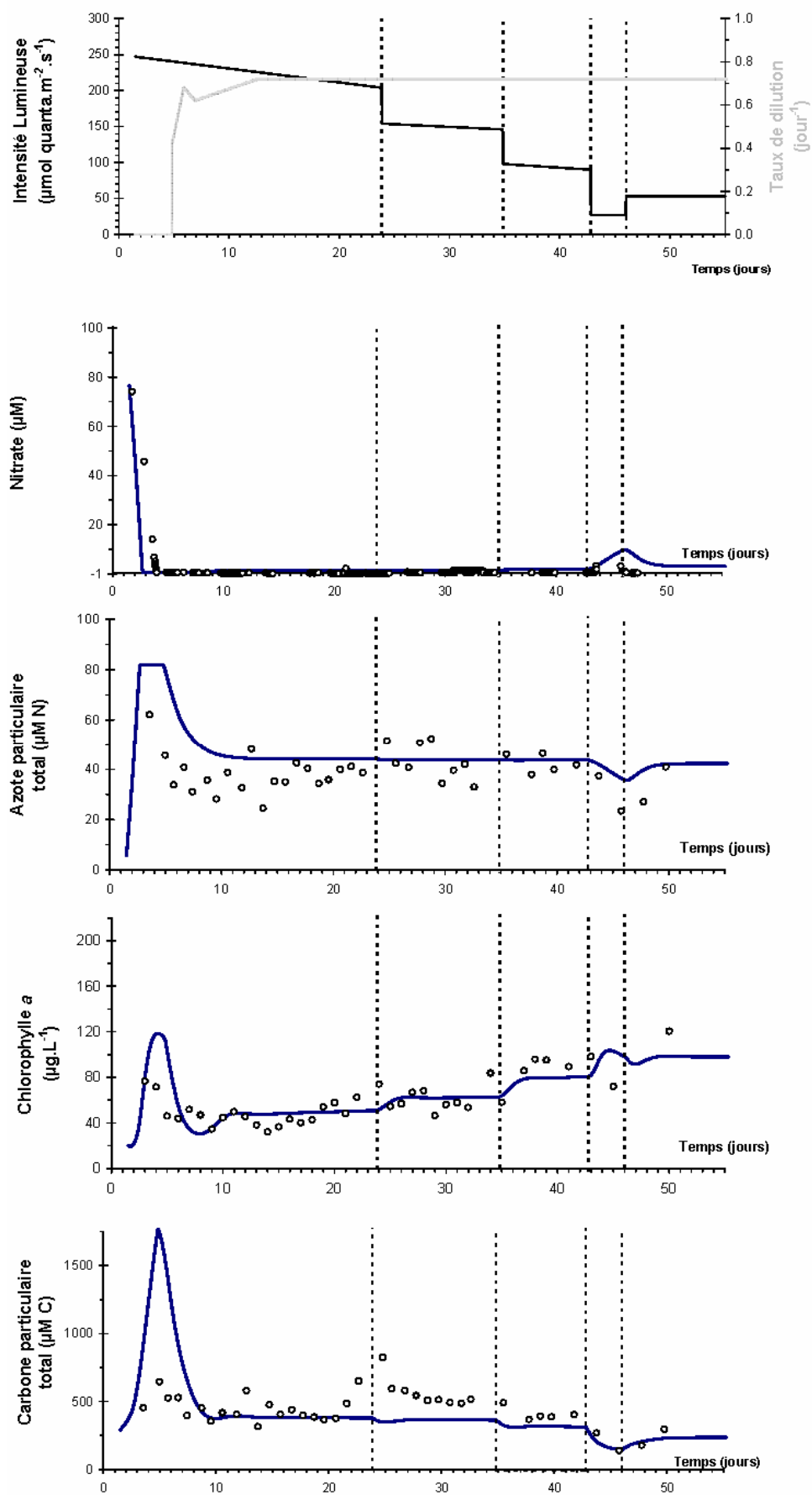


Figure V-18 : Confrontation du modèle au données pour le chiméostat 4.

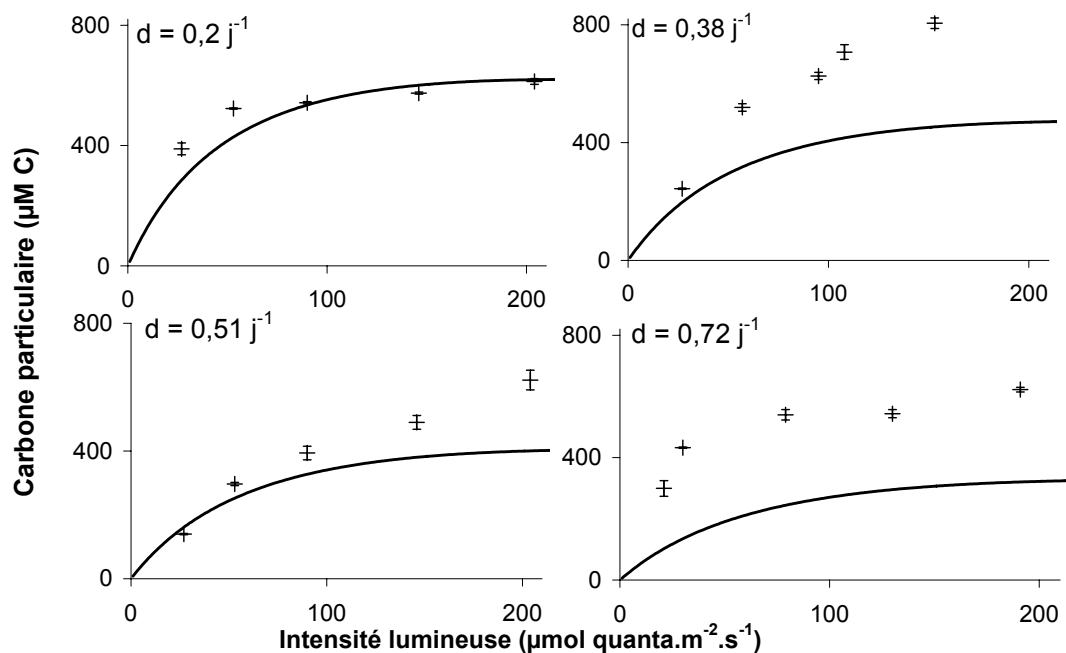


Figure V-19 : Comparaison des solutions à l'équilibre de l'équation du carbone particulaire aux observations. A mesure que la dilution et l'intensité lumineuse augmentent, le modèle tend à sous-estimer ces concentrations.

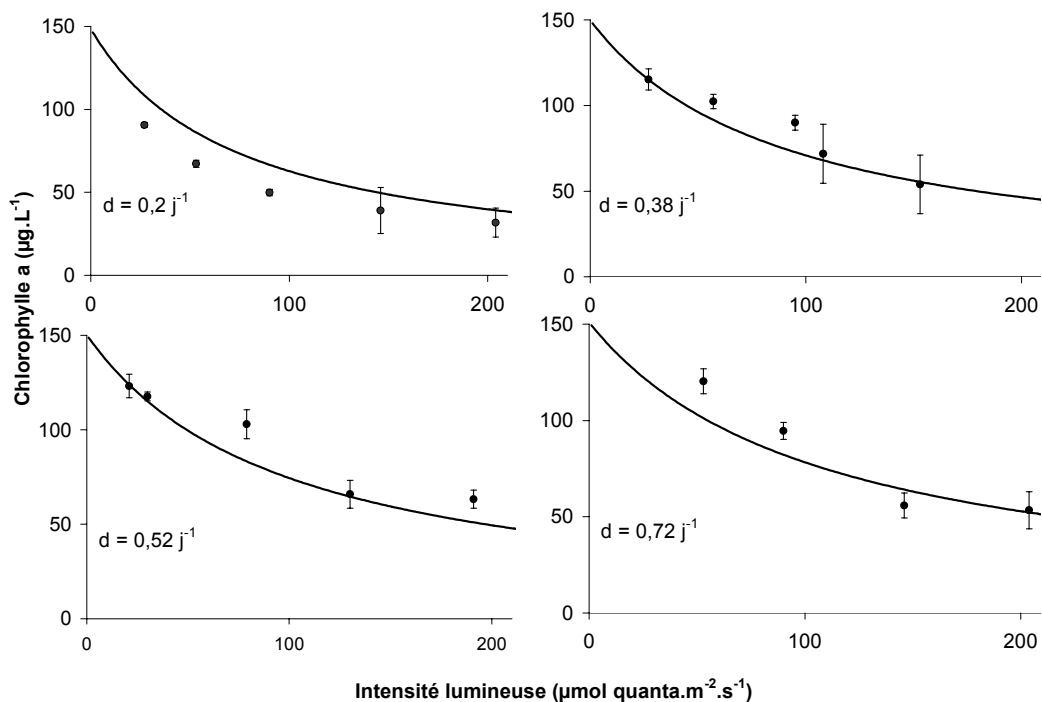


Figure V-20 : Comparaison des solutions à l'équilibre de l'équation de la chlorophylle. Le modèle simule correctement les observations quelles que soient l'intensité ou la dilution.

l'évolution de la chlorophylle (figure V-20) sans tendance particulière de sur- ou sous-estimation de cette variable selon la dilution ou la lumière. L'azote particulaire total (calculé à partir de N+L) est également reproduit fidèlement. Cette variable, tout comme les observations dynamiques, varie peu selon l'intensité lumineuse ou la dilution. Le modèle a tendance à surestimer l'azote particulaire dans le cas du chémostat à dilution $0,2 \text{ j}^{-1}$. Ceci suggère une fois encore une compétition entre les algues et d'autres micro-organismes ou une rétroaction du milieu due aux produits d'excrétion des algues. Le modèle calcule généralement des concentrations faibles en nitrate. Le fait que les mesures soient en dessous du seuil de détection du Technicon ne permet pas d'être catégorique sur la capacité du modèle à représenter le nitrate à l'équilibre. Il est également possible d'estimer les quotas en azote particulaire total et chlorophyllien. Le modèle évolue de façon comparable aux données, bien que les quotas soient un peu surestimés (figures V-21 à V-22) en conséquence de la sous-estimation de la concentration en carbone particulaire. Le modèle représente la relation entre quotas et taux de croissance de façon linéaire.

Les résultats à l'équilibre sont donc satisfaisants d'un point de vue qualitatif. Quantitativement, les variables sont très proches des observations hormis peut-être pour le carbone qui est sous-estimé.

V.2. Phase de batch.

Pour cette phase, seules les données de substrat et de carbone particulaire (mesurées ou estimées à partir du biovolume) peuvent servir pour les comparaisons. Le comportement du modèle est qualitativement comparable aux données avec une augmentation rapide de la biomasse, accompagnée d'une diminution rapide de la concentration en substrat. Le modèle tend à surestimer la biomasse phytoplanctonique qui atteint son maximum bien plus rapidement que les observations. Ceci est vraisemblablement dû à l'absorption trop rapide du nitrate dans le modèle. Néanmoins la dynamique du système reste cohérente avec les observations.

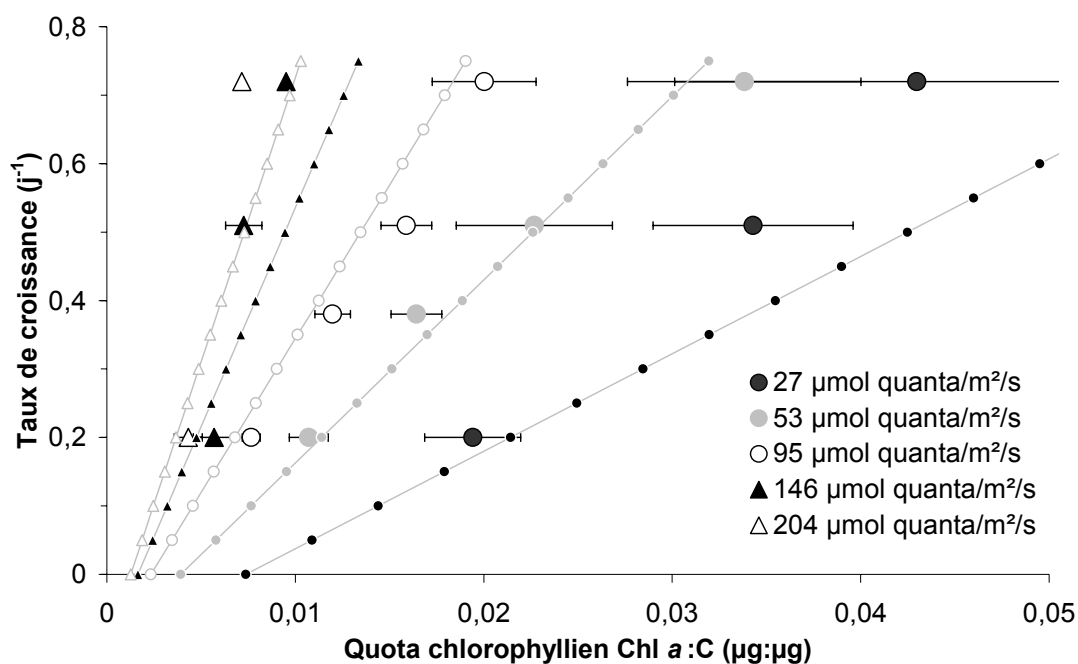


Figure V-21 : Comparaison des rapports chlorophylle sur carbone calculés par le modèle à ceux déduits des observations. Le modèle est capable de reproduire ce rapport de façon satisfaisante hormis aux très faibles intensités lumineuses

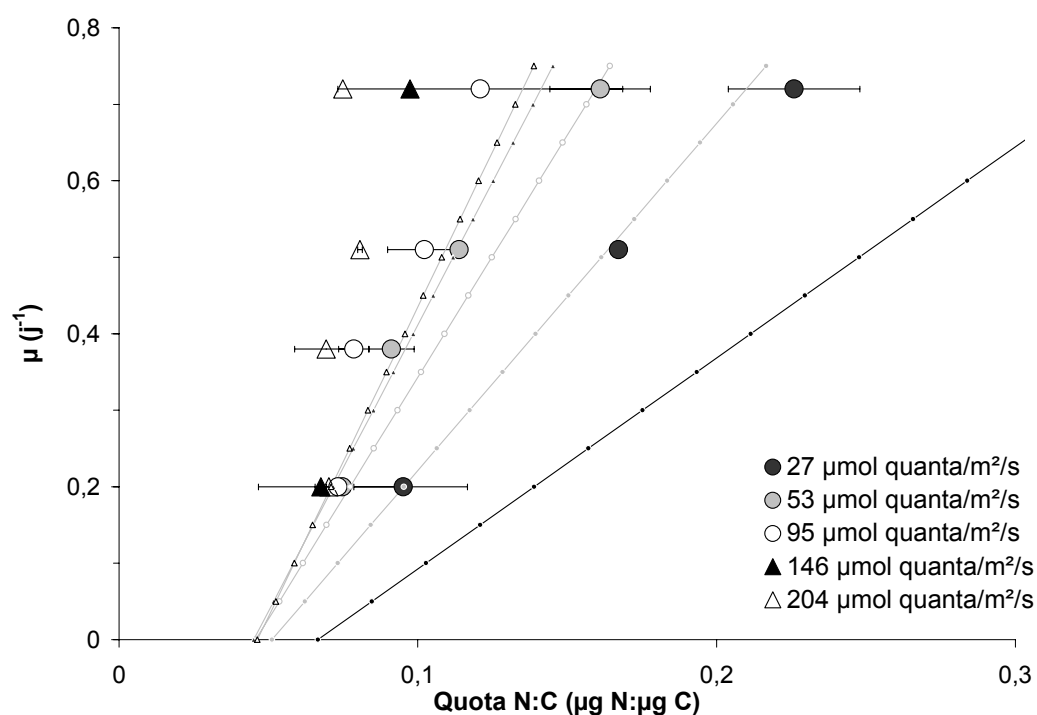


Figure V-22 : Comparaison des rapports azote sur carbone calculés par le modèle à ceux déduits des observations. Le modèle tend à surestimer ce rapport à mesure que l'intensité lumineuse se réduit et que le taux de croissance est élevé mais les ordres de grandeurs restent comparables hormis aux très faibles intensités lumineuses.

Par rapport aux états transitoires et aux équilibres observés, la phase de batch semble être celle où les écarts entre données et simulations sont les plus importants. Ceci est en partie dû au fait que les conditions initiales de la culture sont très mal connues. En effet, les données sont peu abondantes au moment de l'ensemencement. Ensuite la culture évolue rapidement durant la phase de batch, durant laquelle, le fait de travailler en milieu fermé limite les échantillonnages. Par conséquent les conditions initiales sont estimées d'après les premiers points de mesures et sur la base d'hypothèses et d'approximations qui conditionnent la dynamique initiale des simulations. Ces approximations ont ensuite de moins en moins d'influence sur les simulations à mesure que l'on se rapproche des états d'équilibre.

VI. Conclusion.

Ce chapitre a pu mettre en évidence les propriétés de la diatomée *Thalassiosira weissflogii* dans le contexte de cultures à l'équilibre pour différents taux de dilution et intensités lumineuses. Cette étape avait pour but de combler le manque d'informations sur l'évolution des descripteurs de la biomasse (chlorophylle *a*, carbone et azote particulaire) par unité de volume d'eau de mer pour différents niveaux de limitation par la lumière et le nitrate. Cette approche manipule des données de nature comparable à celles utilisées par les biogéochimistes. Cette expérience avait également pour but de valider les hypothèses du modèle BioLOV. Ce modèle présente en définitive un comportement qualitatif cohérent avec les observations en chimostat, ce qui tend à le valider structurellement. D'un point de vue quantitatif, les ordres de grandeurs sont respectés. De ce fait, les hypothèses et formulations de BioLOV dans le contexte expérimental de cultures à l'équilibre sont considérées comme valables. Des méthodes d'identification ont pu être appliquées bien que restant tributaires de la qualité des données expérimentales. Le schéma expérimental qui a été proposé permet d'acquérir au moyen d'une seule expérience les données nécessaires pour permettre l'identification des paramètres de BioLOV. Pour cette première étape de validation, nous avons simplifié les conditions d'expériences par l'usage du flux de photons et d'un apport de nitrate constant. Dans les deux chapitres suivants, nous nous intéresserons au comportement du système biologique et de BioLOV dans un cadre expérimental où la lumière et le nitrate peuvent présenter une dynamique plus complexe.

Chapitre VI

*Croissance du phytoplancton dans une
couche de mélange profonde hivernale*

Chapitre VI

Croissance du phytoplancton dans une couche de mélange profonde hivernale

I. INTRODUCTION	93
 II DE LA REALITE DU MILIEU MARIN L'EXPERIMENTATION EN CHEMOSTAT.....	94
II.1 CHOIX D'UNE COUCHE DE MELANGE.....	94
II.2. CHOIX D'UNE TRAJECTOIRE DE CELLULES.	94
II.3. MOUVEMENT LAGRANGIEN DES CELLULES.....	95
 III. DEROULEMENT DE L'EXPERIENCE.....	97
III.1. ESTIMATIONS DU TAUX DE CROISSANCE DE LA POPULATION.	97
III.2. EVOLUTION DES CONCENTRATIONS EN CARBONE PARTICULAIRE ET CHLOROPHYLLE <i>A</i>	99
<i>a) Influence du cycle lumineux sur les flux de carbone particulaire.</i>	<i>99</i>
<i>b) Photoadaptation de la population.....</i>	<i>100</i>
<i>c) Rapport chlorophylle:carbone.</i>	<i>101</i>
<i>a) Relation entre régime lumineux et assimilation du nitrate.....</i>	<i>102</i>
<i>b) Taux d'absorption et d'excrétion.</i>	<i>103</i>
<i>c) Une relation complexe vis à vis de l'intensité lumineuse.</i>	<i>104</i>
<i>d) Influence de la division cellulaire.</i>	<i>104</i>
<i>e) Conséquences pour l'azote particulaire total et les quotas.....</i>	<i>105</i>
 IV. APPORTS POUR LA MODELISATION.....	106
IV.1. COMPORTEMENT DE BioLOV DANS LE CAS D'UN MILIEU NON LIMITE PAR LE NITRATE.....	106
IV.2. ROLE DU COUPLAGE ENTRE L'ABSORPTION ET LA PHOTOSYNTHESE.	107
<i>a) Intégration d'un taux d'absorption dépendant de la lumière dans BioLOV: une approche empirique.</i>	<i>107</i>
<i>b)Modélisation de l'absorption du nitrate : le problème de l'interaction entre processus continus et discrets.....</i>	<i>108</i>

<i>c) Une modélisation simplifiée de l'absorption.</i>	<i>109</i>

V. SYNTHÈSE ET DISCUSSION..... 111

V.1. UNE EXPERIENCE ORIGINALE.....	111
V.2. DES PROPRIETES EMERGENTES.	114
<i>a) Différentes expressions de la croissance à partir d'un même échantillon.</i>	<i>114</i>
<i>b) L'évolution de la photoadaptation.</i>	<i>115</i>
<i>c) De nouvelles propriétés concernant l'absorption du nitrate.....</i>	<i>117</i>

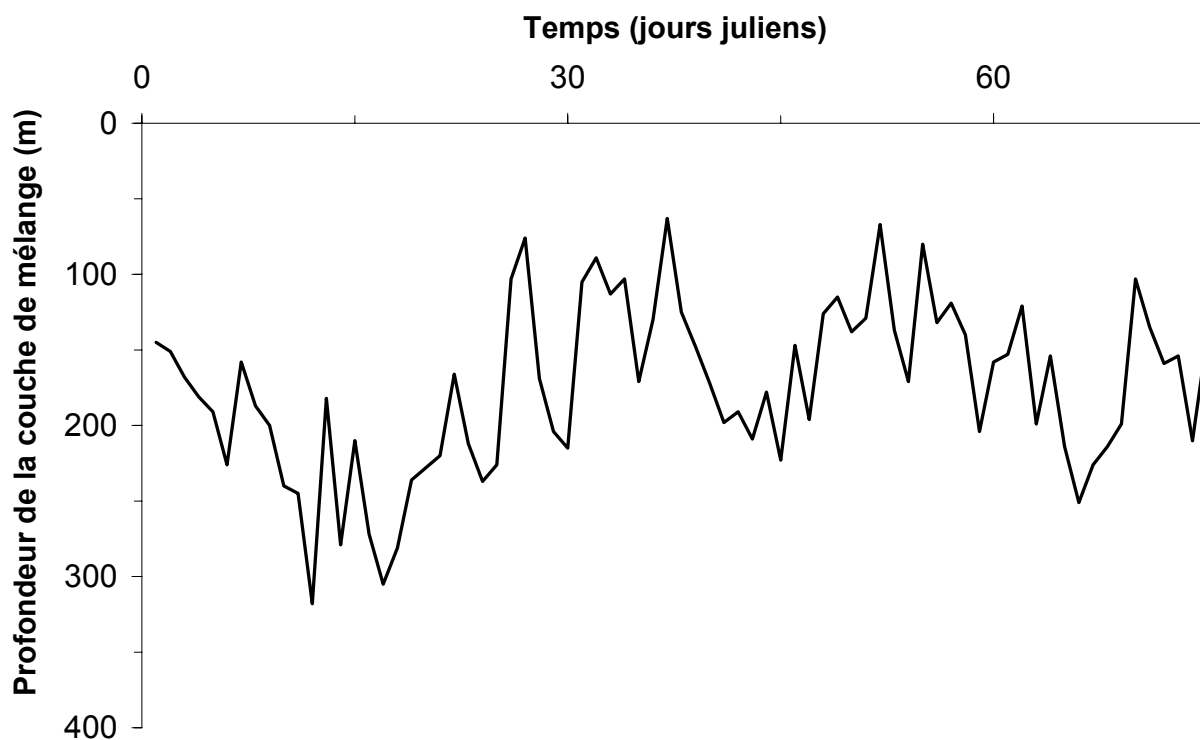


Figure VI-1 : Variabilité de la profondeur de la couche de mélange de janvier à mi-mars 2001 en Atlantique Nord lors du leg 1 de la campagne POMME. Les données correspondent à l'ensemble des stations visitées lors du trajet du navire océanographique *Atalante*.

I. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons réalisé l'identification du modèle BioLOV à l'équilibre. Cet état, s'il est propice au développement de modèles, est néanmoins très éloigné de l'environnement marin où les conditions du milieu varient perpétuellement. Ce chapitre et le suivant vont tester les propriétés de BioLOV pour des conditions de flux de photons variables. Dans ce chapitre, nous allons étudier une situation de couche de mélange profonde où le nitrate est abondant et la lumière limitante pour la croissance. Dans le chapitre suivant, nous nous intéresserons à une situation où le substrat est limitant mais où le flux de photons, périodique, ne l'est pas.

Nous considérons ici la situation d'une couche de mélange profonde hivernale où la turbulence impose aux cellules des conditions d'éclairement très variables et de nitrate non limitant. Cette situation a été explorée lors de la campagne POMME 1 durant le mois de Février 2001 en Atlantique Nord, de sorte que nous disposons à partir des données recueillies, des grandeurs physico-chimiques caractéristiques d'une colonne d'eau. Dans ce type de situation, la variabilité du milieu ne se limite pas à la photopériode car le phytoplancton est advecté en permanence en profondeur. Par conséquent, la qualité et l'intensité de la lumière reçue par les algues évoluent de façon non périodique au cours du temps. La couche euphotique étant beaucoup moins profonde que la couche de mélange, les cellules ont des séjours prolongés dans l'obscurité, conditions peu favorables à la croissance et à l'épuisement du milieu en sel nutritif. Les facteurs qui expliquent le maintien de populations de cellules dans ces conditions de croissance, demeurent encore mal connus (Wehde *et al.*, 2001). Ce chapitre s'intéresse à l'adaptation des cellules à cet environnement, en particulier l'influence de la lumière sur la division des cellules, sur la photoadaptation et sur l'absorption du nitrate. Pour cela, nous avons simulé en chémostat les conditions de croissance résultant du déplacement lagrangien de populations de cellules dans une couche de mélange profonde.

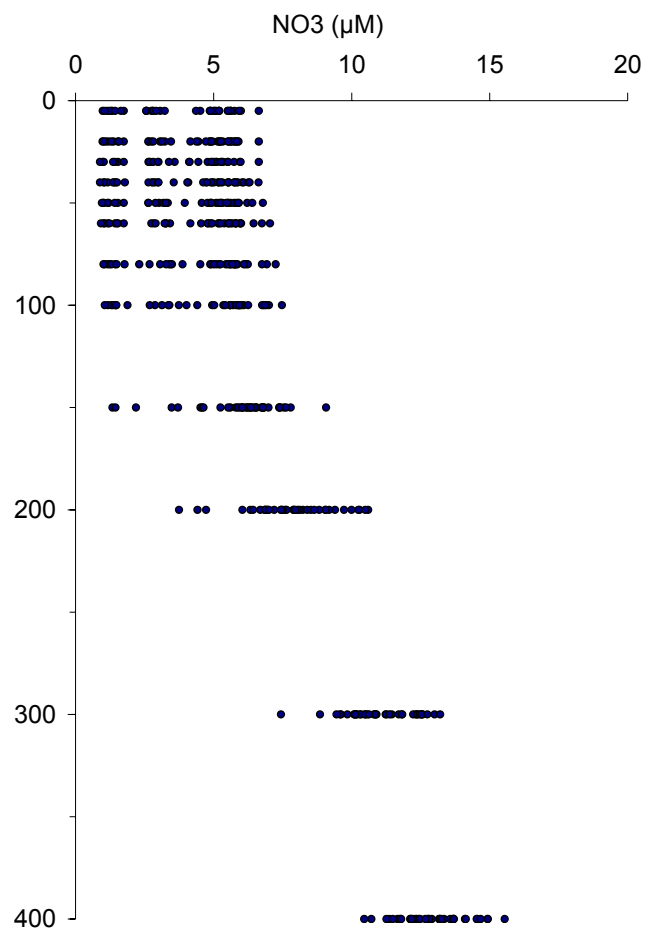


Figure VI-2 : Profil de concentration en nitrate acquis lors de POMME 1 entre le 20 et 23 février 2001. Les concentrations observées dans la couche de mélange (144 m) varient entre 2 et 7 μM .

II De la réalité du milieu marin à l'expérimentation en chémostat.

II.1 Choix d'une couche de mélange.

La couche de mélange a été définie à partir d'observations réalisées lors du Leg 1 de la campagne POMME 1, réalisée durant le mois de Février 2001 en Atlantique nord au large du Portugal. Ces observations ont permis de définir que la profondeur de la couche de mélange (Z_m) était en moyenne de 144m (figure VI-1). Les profils verticaux de chlorophylle ont permis d'estimer la profondeur de la couche euphotique (Z_e), de l'ordre de 91m. La campagne POMME 1 a également révélé que le nitrate n'était pas limitant pour la croissance durant cette période (figure VI-2). Les concentrations observées varient en effet entre 1 et 7 μM jusqu'à 100m et 2 et 9 μM à 150m, puis augmentent ensuite pour atteindre 17 μM . Z_e étant très inférieure à Z_m , une portion importante la biomasse phytoplanctonique séjourne en dehors de la couche euphotique. La durée et la fréquence de ce séjour à l'obscurité dépendent du brassage dans la couche de mélange.

II.2. Choix d'une trajectoire de cellules.

Les cellules sont déplacées dans la colonne d'eau suivant des trajectoires particulières. Pour certaines, les cellules séjournent en permanence à proximité de la surface. Pour d'autres, elles restent à l'obscurité, et il existe une infinité de situations intermédiaires. Ces différentes histoires ont des conséquences évidentes sur la croissance des cellules.

Les contraintes expérimentales ne nous permettent pas de représenter l'infinité de trajectoires. Pour étudier la réponse adaptative des algues à ces mouvements, il est donc

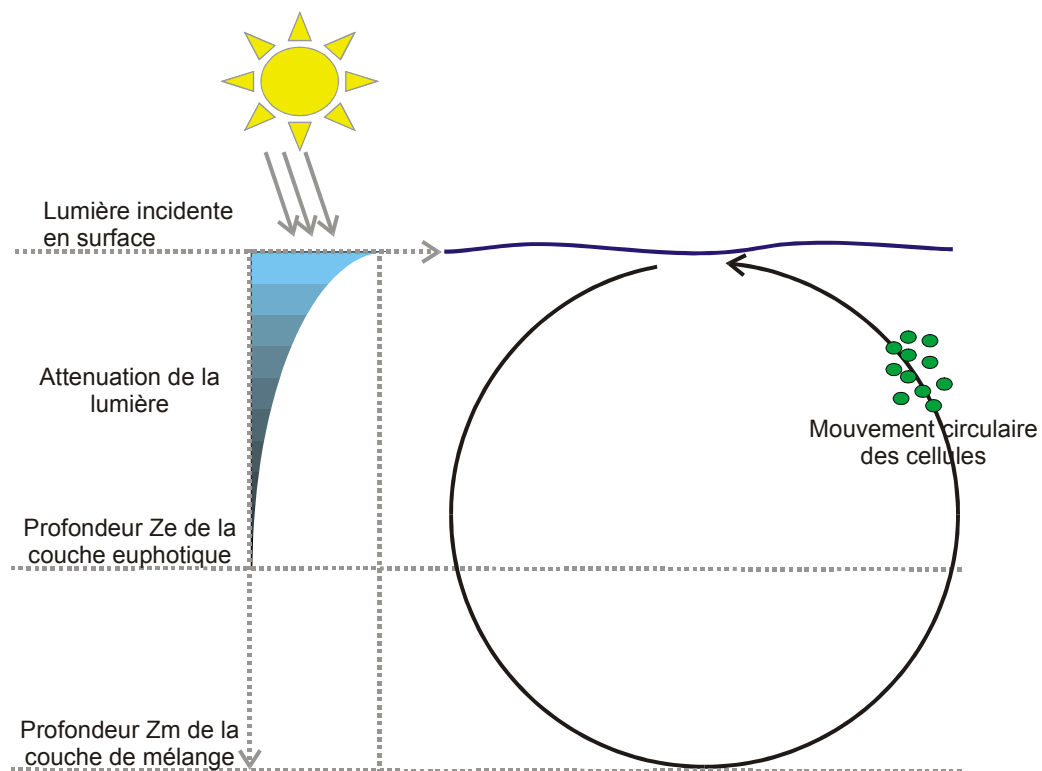


Figure VI-3 : Représentation schématique d’une colonne d’eau en régime hivernal où les cellules évoluent selon des mouvements convectifs circulaires. Pour cette expérience, Z_e et Z_m sont respectivement fixés à 91 et 144 m. Les cellules parcourent le cycle en 76,6 heures.

nécessaire de sélectionner une trajectoire particulière qui puisse caractériser le déplacement des cellules dans la couche de mélange. Ce choix est un problème qui demeure sans réponse évidente. En effet, pour caractériser une population, statistiquement, il pourrait être intéressant de considérer une trajectoire moyenne. D'un autre côté, certaines trajectoires particulières révéleraient probablement des propriétés intéressantes de la photoadaptation. Les modèles hydrodynamiques peuvent fournir des ensembles de trajectoires que l'on peut tenter de classer selon des méthodes statistiques (par exemple Nerini *et al.*, 2001) selon leurs similitudes afin de dégager des tendances, des groupes de trajectoires pour une région donnée. Ces classifications constituent des outils pour sélectionner une trajectoire représentative des mouvements dans la colonne d'eau selon les objectifs recherchés (étude de processus, estimation de la production primaire globale dans la couche de mélange, etc...) .

Cependant, la vocation d'une telle expérience n'est pas de représenter le milieu marin mais de disposer d'une situation qui puisse mettre en évidence des propriétés intéressantes de la physiologie des cellules dans un environnement réaliste. De ce fait, on peut définir une trajectoire théorique beaucoup plus simple définie à partir des ordres de grandeurs des processus physiques observés en mer.

Nous avons donc choisi de représenter un mouvement convectif vertical dans la colonne d'eau entre la surface et la profondeur Z_m de la couche de mélange. La vitesse verticale moyenne des cellules a été estimée à 100 m.j^{-1} (Levy, *comm. pers.*) ce qui correspond à un mouvement convectif de 76,6 heures de révolution (figure VI-3).

II.3. Mouvement lagrangien des cellules.

Nous faisons l'hypothèse que la colonne d'eau est homogène horizontalement et de ce fait nous ne considérons que la composante verticale de la trajectoire des cellules. Nous connaissons à chaque instant t la position verticale $z(t)$ des cellules. Cette information nous permet de déterminer à chaque instant l'environnement de la cellule: lumière, température, concentration en nitrate. Nous considérons ici que la température, la concentration en nitrate et l'absorption de la colonne d'eau sont également homogènes verticalement. Par conséquent,

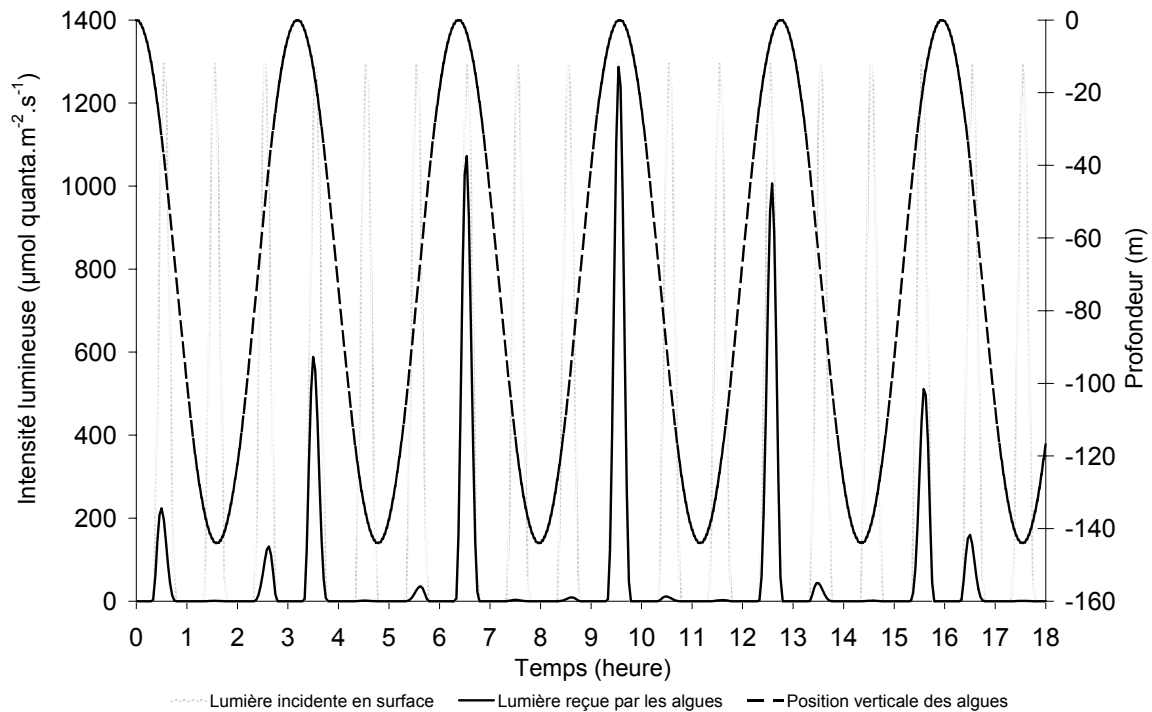


Figure VI-4 : Composante lagrangienne de la lumière reçue par les cellules lors des cycles. La lumière reçue par les algues à l'instant t tient compte de la lumière incidente en surface et de son atténuation relative à la position des algues dans la colonne d'eau. En dépit d'un mouvement relativement simple, la lumière reçue par les cellules présente une évolution complexe. La série temporelle comporte des pics de forte intensité tous les trois jours, séparés par deux jours de faible éclaircissement. L'intensité maximale des épisodes de fort éclaircissement varie également au cours du temps avec des valeurs maximales croissantes pendant les trois premiers cycles (soit 9-10 jours) puis décroissantes. Le signal lumineux appliqué lors de cette expérience a une période globale d'environ 383 jours. La forme de ce signal est également dépendante du choix de la position initiale des cellules dans la colonne d'eau.

simuler le mouvement lagrangien des cellules en chémostat se résume à reproduire la quantité de lumière reçue par les cellules au cours du temps.

Sur l'hypothèse d'une atténuation exponentielle de la lumière avec la profondeur, il est possible de déterminer selon la loi de Beer-Lambert, la quantité de lumière $I(z)$ à la profondeur z connaissant l'irradiance en surface :

$$I(z) = I_{surf} \cdot e^{-k \cdot z} \quad \text{VI.1}$$

$$z(t) = \frac{Zm}{2} \cdot \left(1 - \sin\left(\frac{t \cdot \pi}{\varphi}\right) \right) \quad \text{VI.2}$$

où

I_{surf} : intensité lumineuse en surface ($\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

k : coefficient d'atténuation de la lumière (m^{-1}).

Zm : épaisseur de la couche de mélange (m).

φ : période d'un cycle de convection (j).

t : temps (j).

L'irradiance en surface suit un cycle jour/nuit de période 11:13 h avec un maximum au midi solaire de $1300 \mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Ce maximum, inférieur à celui enregistré *in situ*, correspond à l'intensité lumineuse maximale que peut produire notre système d'éclairage dans le champ expérimental. La quantité de lumière reçue par les cellules est donc à la fois dépendante de la profondeur et de l'irradiance en surface, deux paramètres qui évoluent au cours du temps. La combinaison de ces informations permet de définir la quantité de lumière reçue lors du transport des cellules dans la colonne d'eau. Cette série temporelle (figure VI-4) est programmée dans l'automate d'éclairage des chémostats.

La forme du signal nous incite à considérer trois échelles de temps :

- 1) L'ensemble de l'expérience (soit 18 jours), car le passage du régime lumineux continu

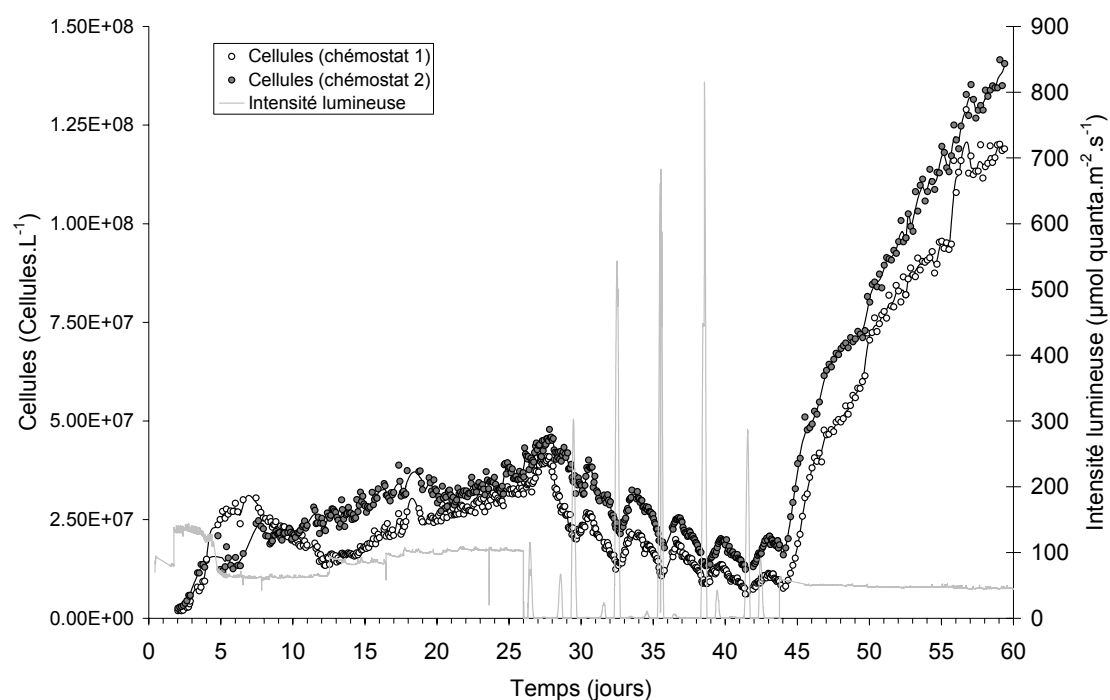


Figure VI-5 : Evolution du nombre de cellules sur l'ensemble de l'expérience (phase initiale de croissance sous lumière continue, régime cyclique puis seconde phase sous lumière constante) pour chaque chémostat.

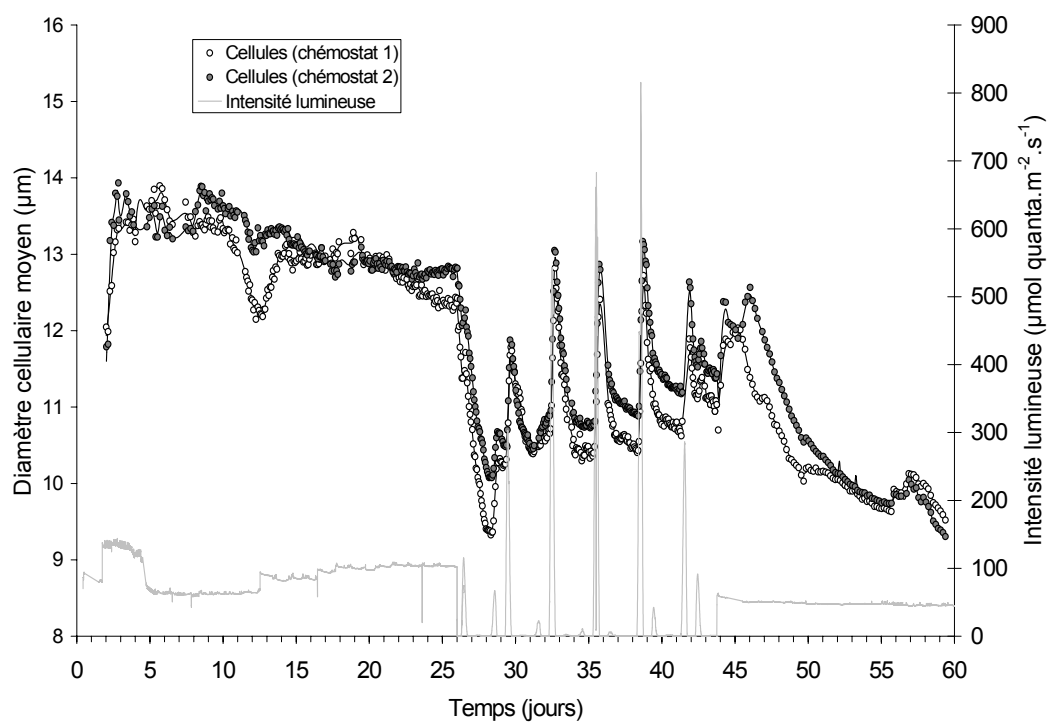


Figure VI-6 : Evolution du diamètre moyen des cellules.

au régime périodique s'accompagne d'une forte variation de la biomasse phytoplanctonique.

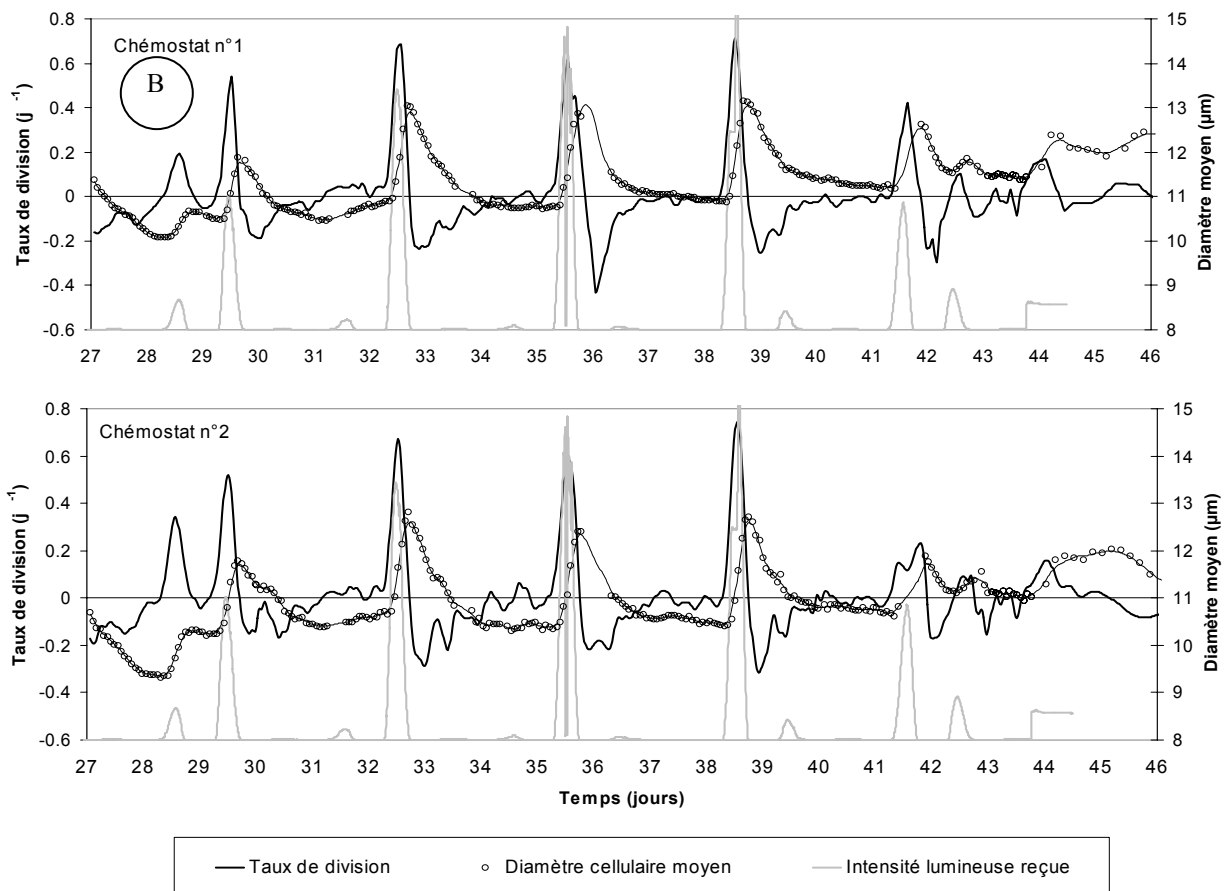
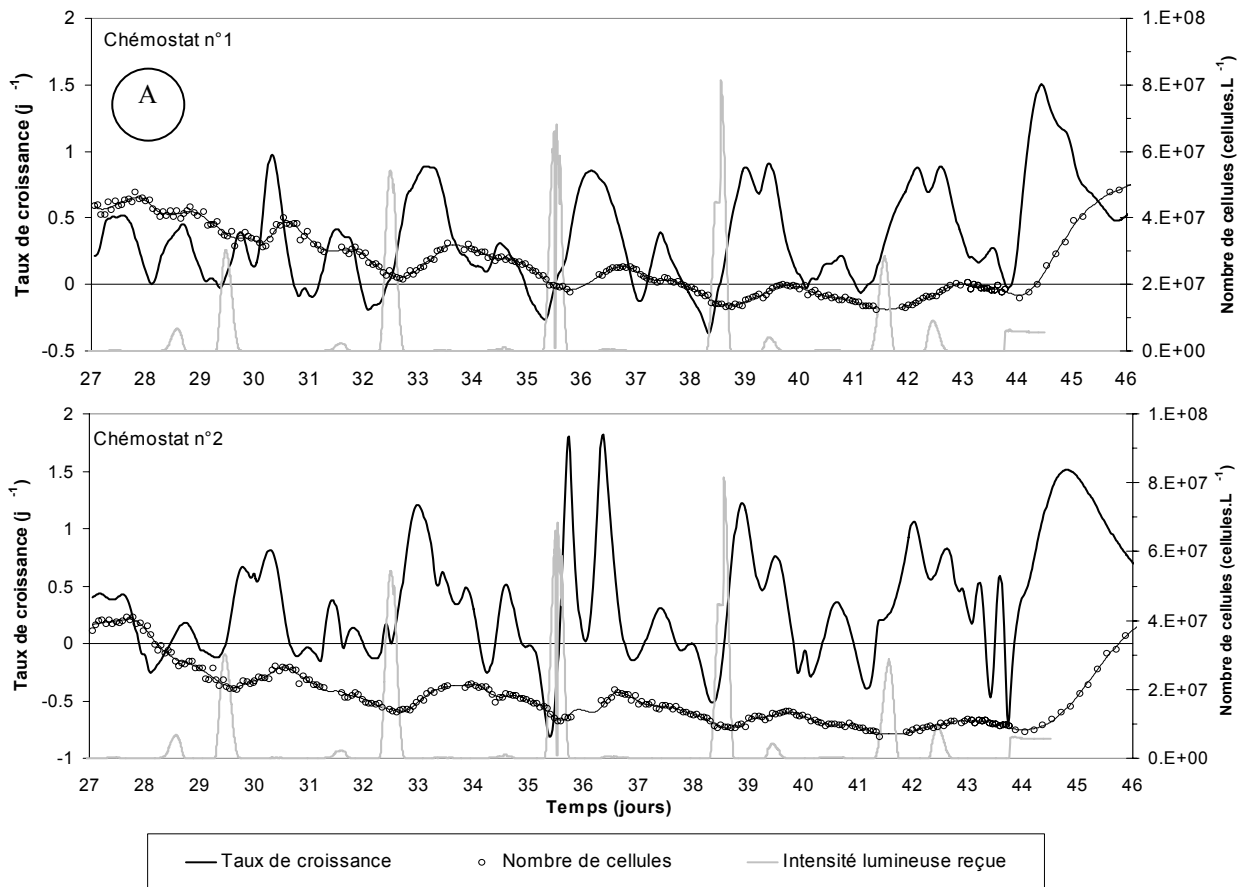
- 2) Le cycle vertical des cellules dans la colonne d'eau. Ce cycle dure trois jours et correspond à une journée de fort éclaircissement, une journée d'éclaircissement faible ou nul, et d'une journée sans éclaircissement significatif.
- 3) Le cycle lumineux journalier.

III. Déroulement de l'expérience.

Deux chémostats de cinq litres sontensemencés avec une souche de *Thalassiosira weissflogii*. Après quelques jours en batch, la dilution est fixée à $0,35 \text{ j}^{-1}$ et *Sin* à $100 \text{ }\mu\text{M}$ de nitrate. L'éclaircissement est maintenu constant pendant 26 jours. Le flux de photons a initialement été fixé à $63 \text{ }\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, soit l'intensité moyenne sur l'ensemble du cycle lumineux. Mais pour maintenir la population des chémostats à un niveau suffisant de biomasse, nous avons dû régler l'éclaircissement à $100 \text{ }\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. La lumière simulant le mouvement convectif est appliquée du 26 au 46^{ème} jour, après quoi la culture est ensuite remise sous lumière constante à $50 \text{ }\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

III.1. Estimations du taux de croissance de la population.

Le nombre de cellules et leur diamètre moyen (figures VI-5 et VI-6) sont assez reproductibles d'un chémostat à l'autre. Sous lumière variable, on observe des oscillations des différents paramètres de la population. La biomasse semble se stabiliser en fin d'expérience. Après le passage sous lumière continue le 26^{ème} jour, on observe une augmentation rapide du nombre de cellules et une diminution du diamètre. Cette augmentation est due au passage sous lumière constante mais ce facteur n'est pas suffisant pour expliquer l'important développement de la biomasse. Il est possible que les faibles niveaux de biomasse qui



Figures VI-7a et b: Evolution des taux de variation de la population déduits des fluctuations (A) de la densité cellulaire et (B) du diamètre cellulaire moyen.

précèdent cette augmentation soient attribuables à la limitation par un autre facteur. Des observations comparables (Sciandra, *comm. pers.*) ont montré qu'un apport de silice dans le milieu de culture postérieur à l'apport initial lors de la préparation du milieu F/2 contribuait à stimuler la croissance. La silice ou un autre facteur ont peut être contribué à limiter la croissance durant l'expérience. Le passage sous lumière continue stimule dans ce cas une biomasse devenue peu abondante et qui profite alors d'un milieu où tous les éléments sont abondants et propices à une croissance forte comme nous l'observons.

Les faibles niveaux de biomasse observés lors de la phase sous régime lumineux cyclique n'épuisent pas totalement les nitrates apportés par le renouvellement du milieu. En effet, dès le passage sous régime lumineux fluctuant, le nitrate s'accumule dans les chémostats et devient donc non limitant pour la croissance. Ceci sera étudié en détail au paragraphe III.3. Pour la suite de ce manuscrit, nous nous focaliserons sur les résultats acquis lors de la phase de régimes lumineux cycliques.

Le nombre de cellules (figure VI-7a) augmente systématiquement après chaque épisode lumineux important, reste élevé pendant une journée puis décroît plus lentement jusqu'au prochain évènement lumineux important. L'augmentation importante du nombre de cellules, qui intervient après un éclaircissement significatif, est due à la division cellulaire qui est effectivement beaucoup plus marquée après un fort éclaircissement mais également après un épisode avec peu de lumière. La division cellulaire semble donc intervenir tous les jours, même lorsque les cellules restent dans une quasi-obscurité, ce qui suggère un contrôle dû à une horloge biologique interne.

Le volume cellulaire augmente durant les phases de forts éclaircissements car les cellules fixent le carbone via la photosynthèse (figure VI-7b). Cette augmentation traduit la croissance somatique, durant laquelle le diamètre passe d'environ 10,5-11 μm à 13 μm en fin de journée. Au début de la nuit, la division cellulaire induit par une diminution rapide du diamètre qui se stabilise autour de 11 μm . Ce phénomène n'intervient que lors des phases de forts éclaircissements. La variation du diamètre présente un pic d'accroissement uniquement lors des forts éclaircissements, pour décroître ensuite et se stabiliser jusqu'au prochain épisode de forte intensité lumineuse. Ces observations qui suggèrent que la division cellulaire ne se produit que lors des épisodes de forts éclaircissements, sont en contradiction avec les remarques faites pour le nombre cellules qui plaident pour une division journalière. Le fait que la périodicité de

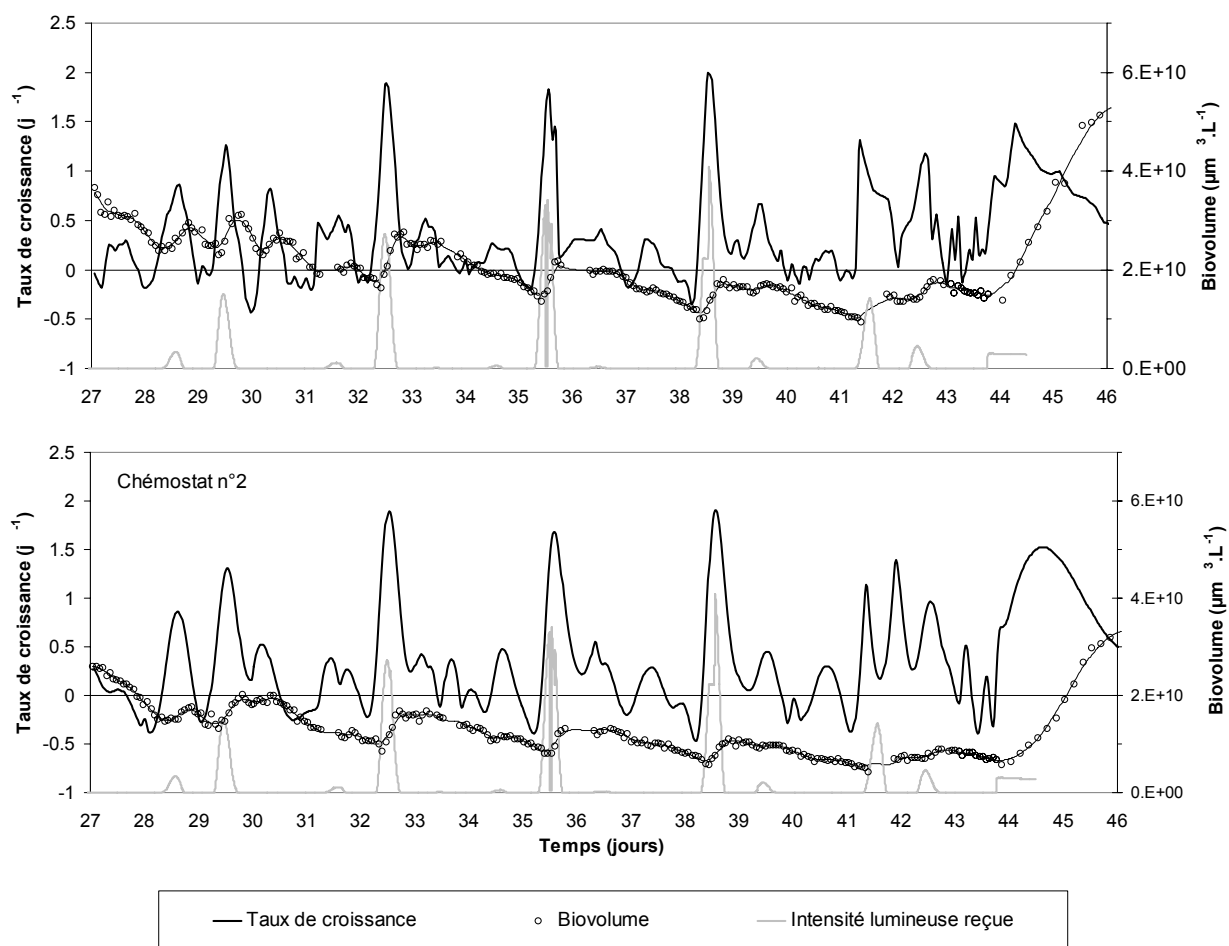


Figure VI-8 : Evolution des taux de croissance déduits à partir des fluctuations du biovolume.

la division ne soit pas la même pour ces deux descripteurs suggère que la population n'est que partiellement synchronisée : s'il y a un pic de division chaque jour pour le nombre de cellule, l'absence de variations du diamètre en dehors des épisodes de forts éclaircissements laisse supposer que seule une portion de la culture se divise, et que cette portion n'a pas d'effet significatif sur l'évolution du diamètre.

Le biovolume (figure VI-8), qui prend en compte à la fois les variations du diamètre et du nombre de cellules, augmente rapidement durant les forts éclaircissements et puis décroît lentement. Ce phénomène se reproduit tous les jours et l'importance des pics de variation du biovolume dépend de l'intensité lumineuse. Les situations de faible éclaircissement s'accompagnent d'une croissance faiblement stimulée, alors qu'une forte irradiance a pour conséquence une augmentation plus importante du biovolume.

III.2. Evolution des concentrations en carbone particulaire et chlorophylle *a*.

a) Influence du cycle lumineux sur les flux de carbone particulaire

Le carbone cellulaire, dont les mesures présentent des résultats très reproductibles d'un chémostat à l'autre (figure VI-9), augmente lors des phases d'éclaircissement à cause de la photosynthèse. Ce phénomène s'observe même pour des intensités lumineuses très faibles mais ce n'est pas systématique (figures VI-10a et VI-10b). La fixation de carbone par une unité de chlorophylle augmente avec le flux de photons, mais ne semble pas présenter de saturation dans la gamme d'irradiance reçues. Durant les phases obscures qui suivent les journées de fort éclaircissement, la quantité de carbone par cellule décroît rapidement en raison de l'absence de photosynthèse et de la division cellulaire: la même quantité de carbone se répartie sur davantage de cellules. Cette quantité reste relativement stable durant la nuit ou lorsque la lumière est très faible.

Les pertes et gains de carbone par cellules sont également reflétés par le rapport

carbone/biovolume. La figure VI-11 montre que ce rapport augmente pendant les épisodes de forts éclaircissements, ce qui implique que la fixation du carbone ne se traduit pas par une augmentation du volume cellulaire aussi importante. Les frustules des diatomées sont rigides et, dans une certaine mesure, la cellule accumule du carbone sans variation de son volume cellulaire. En début de nuit, la division cellulaire répartit l'excédent de carbone dans les cellules filles. Le rapport est ensuite constant jusqu'au prochain épisode de fort éclaircissement.

b) Photoadaptation de la population

Les mesures de chlorophylle *a* estimées par absorption *in vivo* sont relativement bruitées en raison de la faible biomasse présente dans les chémostats. La chlorophylle *a* décroît durant les 18 jours de régime lumineux fluctuant et passe ainsi de 90 $\mu\text{g.L}^{-1}$ à 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A l'échelle journalière, la chlorophylle décroît lors des phases d'éclaircissement puis en fin de journée augmente pour revenir à des concentrations proches de celles observées en début de journée. Ces fluctuations mettent en évidence la photoadaptation des cellules à l'échelle du cycle diurne.

La quantité de chlorophylle par cellule (figure VI-12) augmente au début de l'expérience pour se stabiliser rapidement ensuite à une valeur autour de 3 pg chl *a*.cellule⁻¹. Cette stabilité suggère que la décroissance de la chlorophylle dans le milieu est proportionnelle à celle du nombre de cellules. Les faibles niveaux de lumière favorisent la synthèse de pigments après le passage sous régime lumineux fluctuant. La stabilisation qui suit suggère que la synthèse des pigments est ensuite saturée.

Cependant, les concentrations cellulaires en chlorophylle présentent des variations journalières et sont plus élevées après un épisode de fort éclaircissement. La concentration décroît en revanche durant les périodes d'obscurité prolongée. Ces variations suggèrent que la chlorophylle est produite essentiellement lors des phases d'éclaircissement (donc de croissance somatique), alors que dans l'obscurité la production de pigments est ralentie, à l'instar de la croissance. Cette observation est en opposition avec l'idée que l'on se fait de la photoadaptation qui permet une synthèse accrue de pigments à faible intensité lumineuse. A l'issue d'un fort éclaircissement, la cellule va être saturée en chlorophylle *a* puis cette concentration va décroître

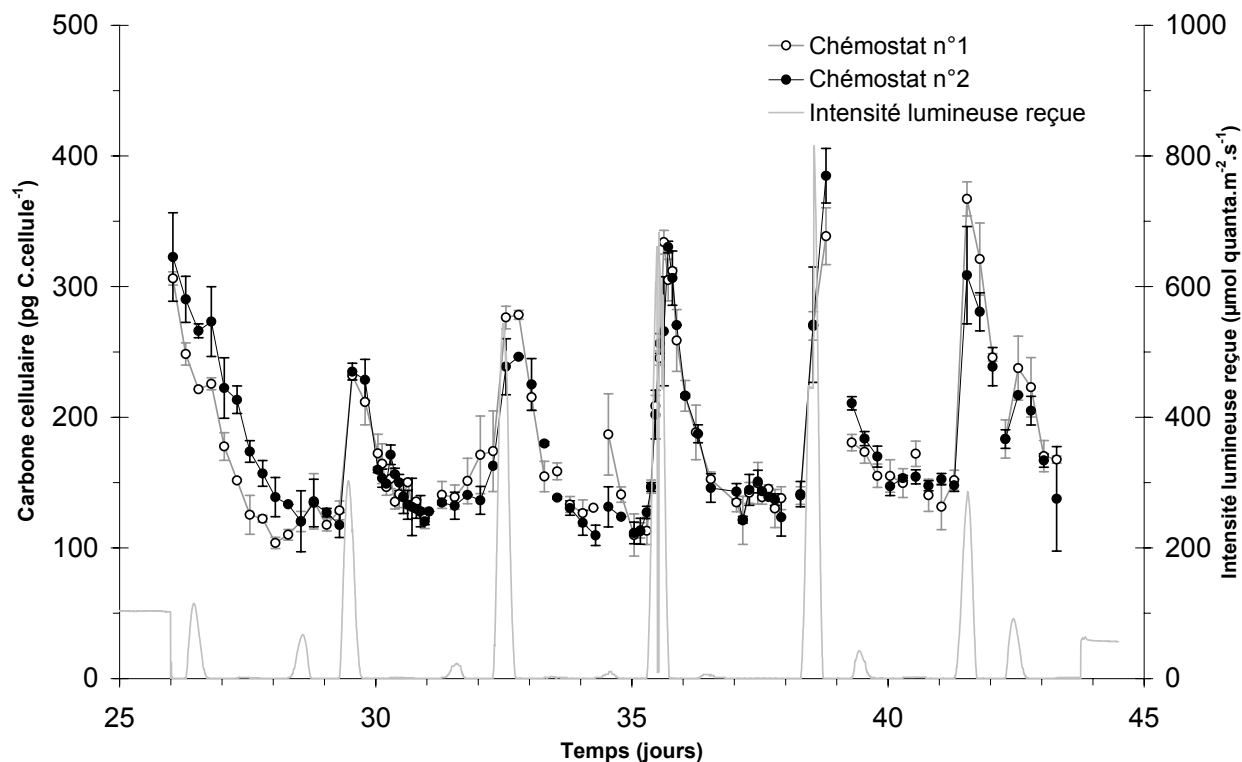


Figure VI-9 : Evolution de la quantité de carbone particulaire par cellule.

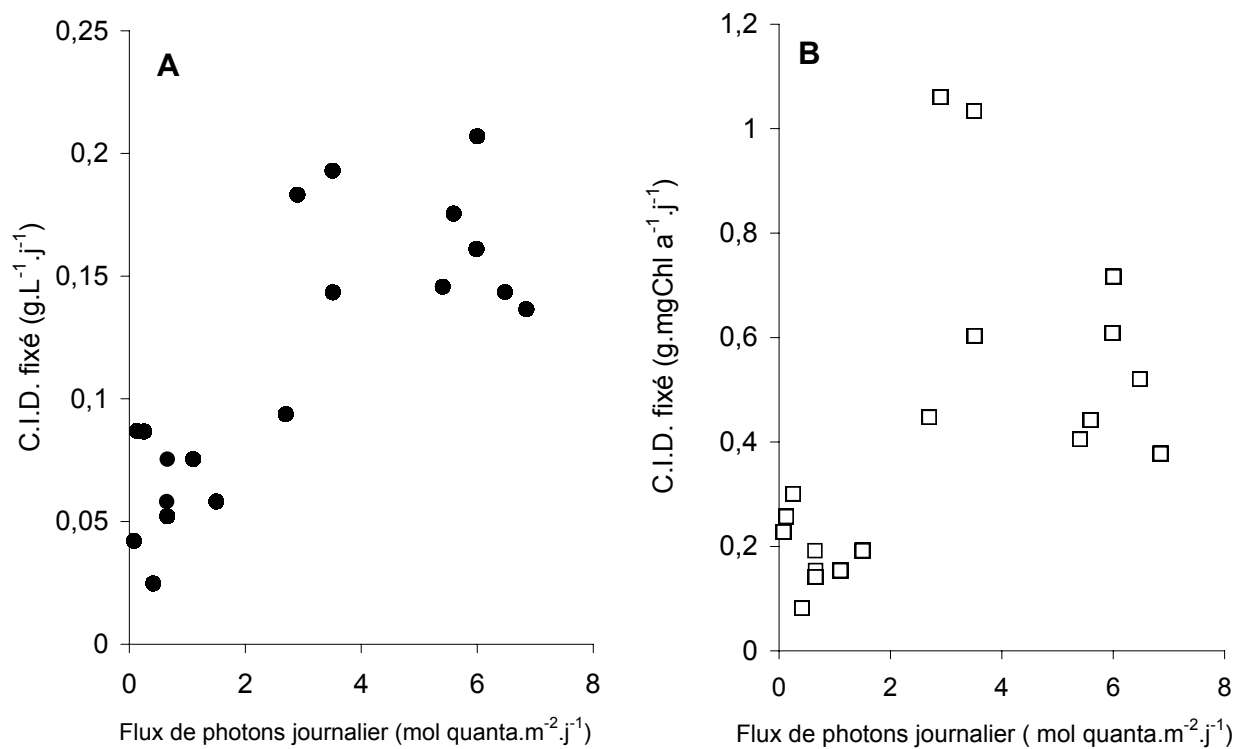


Figure VI-10 : Quantité de carbone inorganique dissous fixé par jour en fonction du flux de photon (a) et par unité de chlorophylle (b). Le graphique (b) peut être assimilé à un rendement de fixation du carbone par la chlorophylle en fonction de l'éclairement.

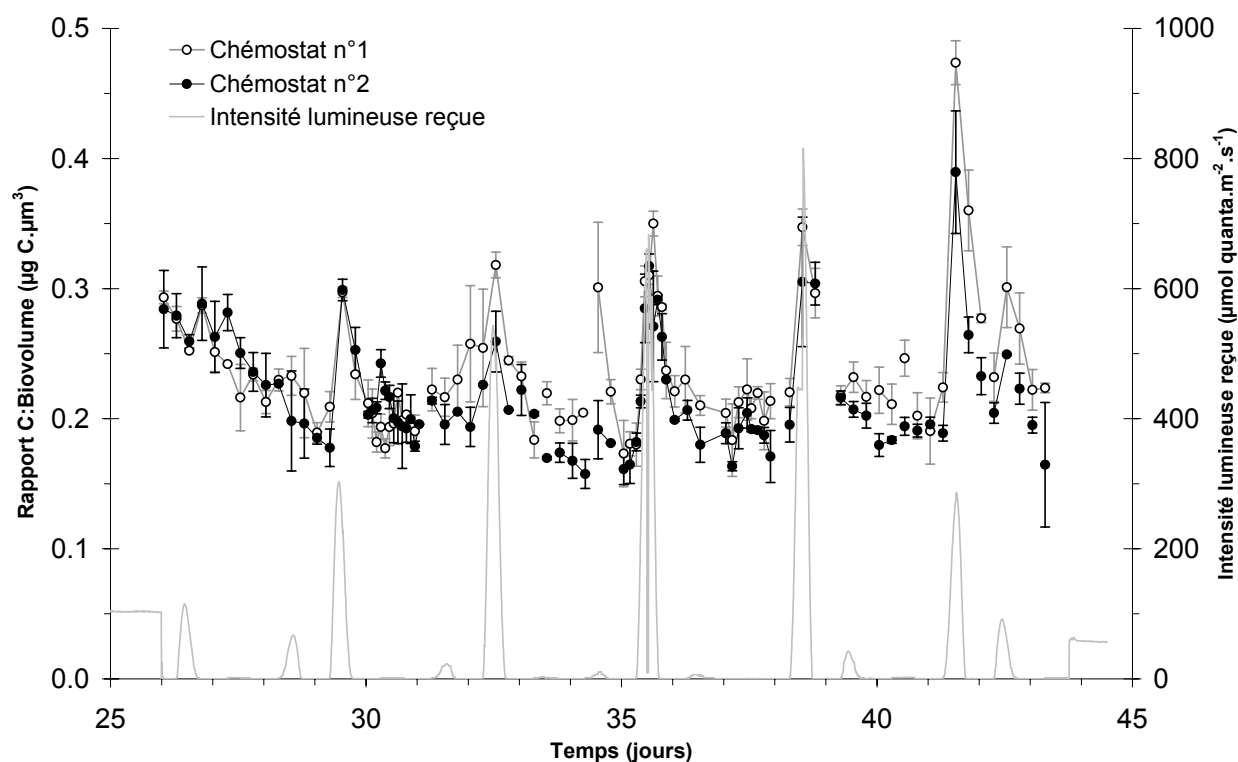


Figure VI-11 : Evolution du rapport entre le carbone particulaire et le biovolume. Ce rapport traduit la quantité de carbone présente par unité de volume cellulaire.

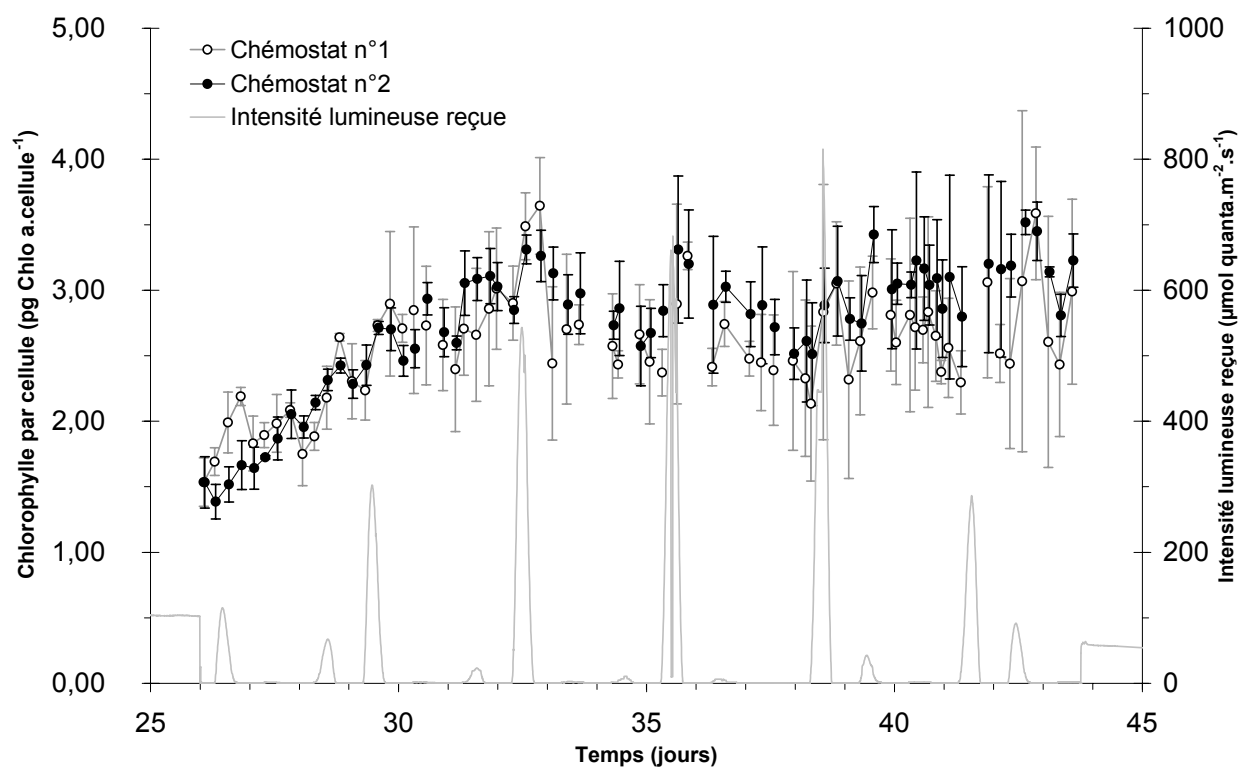


Figure VI-12 : Evolution de quantité de chlorophylle par cellule.

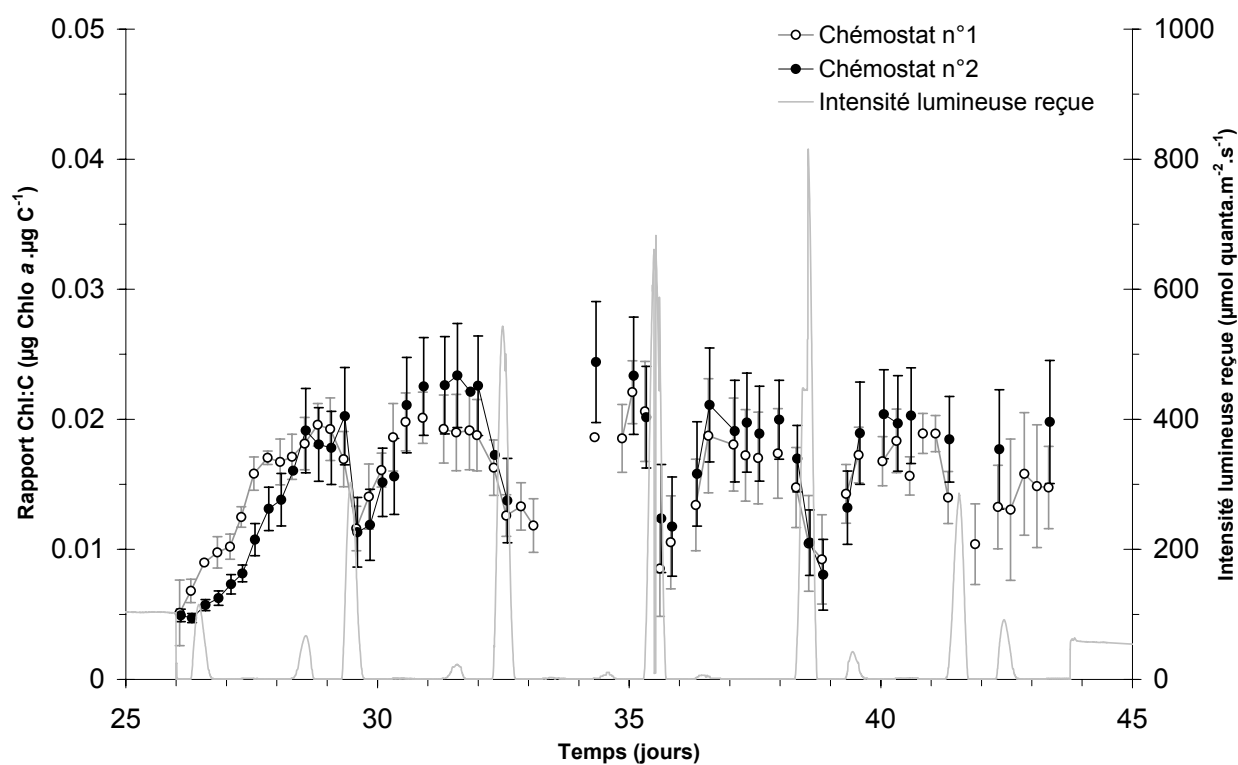


Figure VI-13 : Evolution du rapport chlorophylle sur carbone au cours de l'expérience sous régime fluctuant.

lentement jusqu'au prochain épisode d'éclairement.

Cela peut être lié à une dégradation des pigments (ou à leur non-renouvellement) du fait d'une croissance ralentie. La division cellulaire pourrait également intervenir pour expliquer cette diminution dans la mesure où le nombre de cellules augmente à chaque division alors que la concentration en chlorophylle décroît lentement. Par conséquent, la concentration cellulaire en chlorophylle diminue d'une division à l'autre mais les observations ne permettent pas d'observer si la division cellulaire a un effet sur l'évolution de cette concentration.

c) Rapport chlorophylle:carbone.

Le rapport chlorophylle/carbone (figure VI-13) présente des valeurs élevées et relativement constantes lors des phases d'obscurité mais décroît fortement lors des phases d'éclairements importants. Les valeurs oscillent entre 0,023 et 0,009 $\mu\text{g Chl } a. \mu\text{g C}^{-1}$ après la période transitoire qui suit le démarrage des cycles. Lors de cette transition, le rapport augmente rapidement et passe de 0,005 à 0,019 $\mu\text{g Chl } a. \mu\text{g C}^{-1}$ de façon relativement monotone en 3 jours. A l'échelle des 18 jours, il n'y a pas de tendance marquée avec des valeurs maximales à l'obscurité qui restent autour de 0,018 $\mu\text{g Chl } a. \mu\text{g C}^{-1}$. Les propriétés de ce quota en fonction la lumière sont conformes aux observations qui ont été faites pour les états d'équilibre de l'expérience précédente.

III.3. Effets de la lumière sur l'absorption des nitrates et les flux d'azote au sein de la cellule.

L'absence de limitation de la croissance par les nitrates est une situation imposée en partie par les conditions de l'expérience: le flux de photon programmé pendant la phase de lumière fluctuante n'apporte pas suffisamment d'énergie pour permettre aux cultures d'assimiler le flux de nitrate, relativement important à cause de la valeur de Sin de 100 μM .

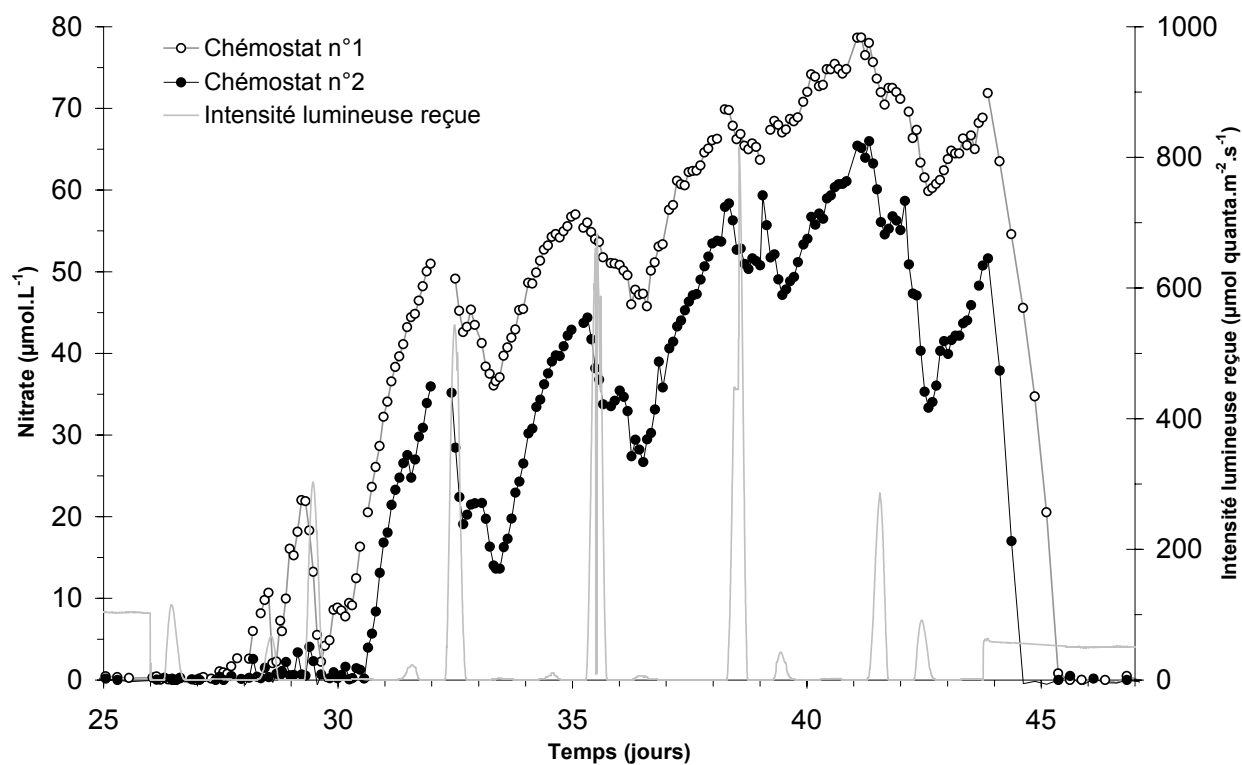


Figure VI-14 : Apparition du nitrate dans la culture après passage sous régime lumineux fluctuant et disparition lorsque la culture est à nouveau sous lumière constante.

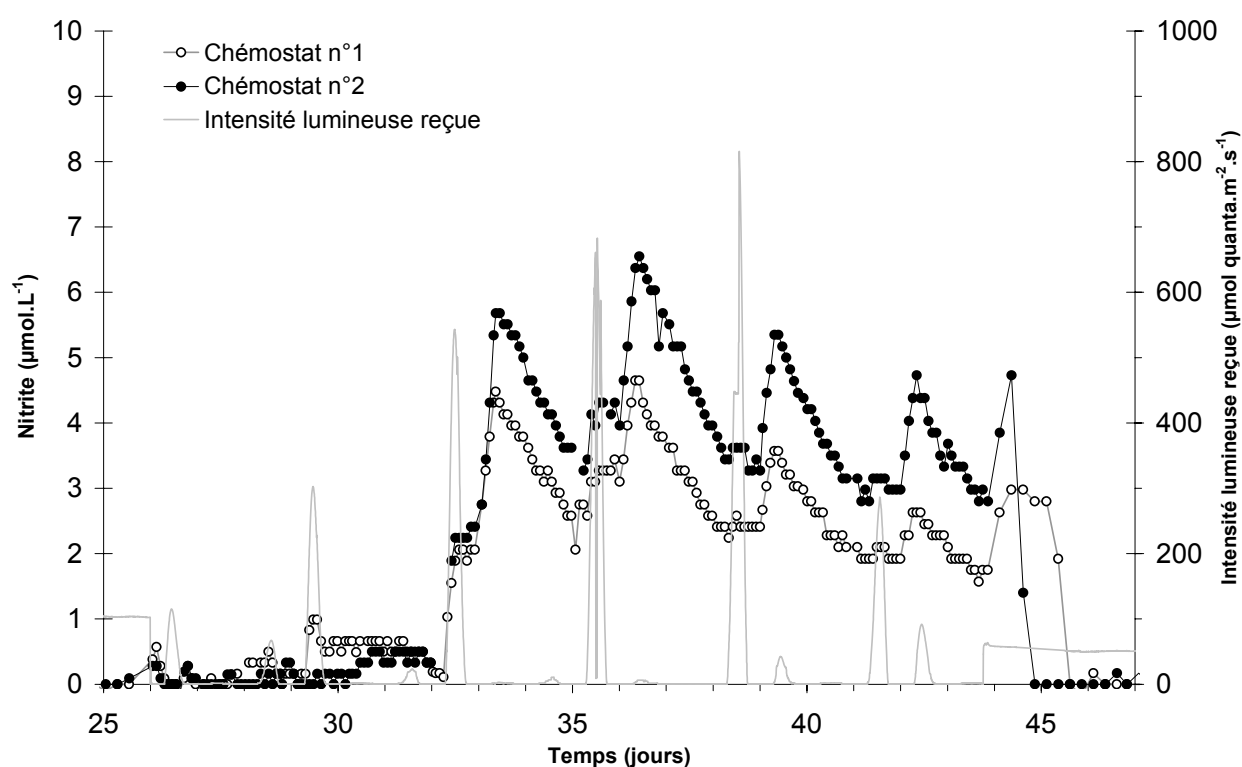


Figure VI-15 : Apparition de nitrite dans la culture. Le nitrite n'est initialement pas présent dans les milieux de culture. Il est excrété par les algues.

En effet, le nitrate apporté par le renouvellement du milieu est entièrement consommé lors des phases de croissance sous lumière constante. Le passage à un régime de lumière cyclique met ainsi en évidence un effet du régime lumineux sur l'utilisation du nitrate.

a) Relation entre régime lumineux et assimilation du nitrate.

L'apparition de nitrate (figure VI-14) est concomitante à une décroissance importante et rapide de la population de cellules (figure VI-7a) liée à des conditions d'éclairement très limitantes pour la croissance. A l'inverse, en fin d'expérience, le passage sous lumière constante s'accompagne d'une forte augmentation de la biomasse avec une croissance très rapide de la population et l'épuisement rapide du nitrate présent dans les cultures qui devient à nouveau un facteur limitant pour la croissance. Ces observations suggèrent que l'apparition du nitrate est une conséquence de la forte diminution de la biomasse qui n'est plus capable de consommer tout le nitrate apporté, mais le calcul des taux d'absorption rapportés à la biomasse, que nous étudierons en détail au point b), montre que cette apparition est également liée à des changements des propriétés d'assimilation des cellules.

Si, durant l'expérience, la concentration en nitrate augmente progressivement dans le milieu, les phases d'éclairement sont accompagnées d'une décroissance de la concentration en nitrate résiduel, conséquence d'une absorption accrue durant ces phases. Nous observons parallèlement l'apparition de nitrite lors de ces phases (figure VI-15). Il s'agit d'un produit d'excrétion des cellules puisqu'il n'est pas présent dans les milieux de culture. Le nitrite est produit lors de la réduction du nitrate par la nitrate réductase, et est ensuite dégradé par la nitrite réductase en ammonium (figure VI-16). L'excrétion de nitrite par la cellule pourrait donc refléter une baisse de la nitrite réductase. Ce phénomène n'étant pas apparu lors de l'expérience sous lumière constante, cette baisse d'efficacité est probablement liée à la réduction de l'activité photosynthétique des cellules à l'obscurité. Si le fort éclairement stimule l'absorption du nitrate, la réduction du nitrite semble, quant à elle, affectée par les périodes d'obscurité.

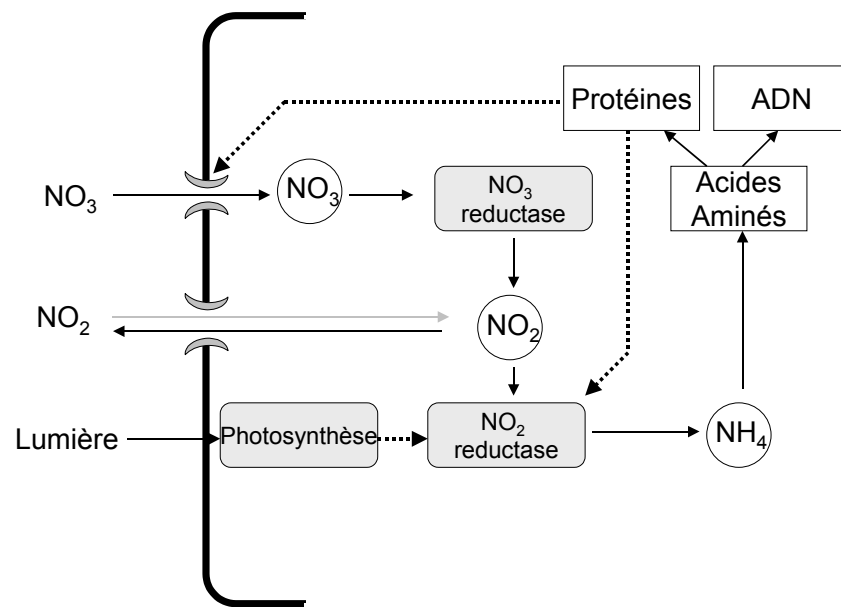


Figure VI-16 : Absorption et transformation du nitrate extracellulaire en azote organique. Le nitrate est absorbé par la cellule où il est transformé en nitrite par la nitrate réductase puis en ammonium par la nitrite réductase. Cette transformation nécessite de l'énergie acquise par la photosynthèse. En absence d'énergie, la cellule rejette dans le milieu du nitrite. L'ammonium est ensuite assimilé en acides aminés qui serviront au métabolisme de la cellule.

b) Taux d'absorption et d'excrétion.

A partir des séries temporelles de mesures du nitrate et nitrite et en tenant compte des fluctuations de la population de cellules, nous pouvons calculer les taux d'absorption du nitrate et d'excrétion du nitrite.

La quantité de nitrate absorbée par unité de temps et de biomasse se définit selon la relation suivante :

$$\rho_{brut} = -\frac{1}{B} \cdot \left(\frac{\Delta[NO_3]}{\Delta t} - d \cdot (Sin - [NO_3]) \right) \quad \text{VI.1}$$

où

- d : taux de dilution,
- B : biomasse (nombre de cellule, carbone particulaire...),
- Sin : concentration en nitrate dans le milieu de culture,
- [NO₃] : concentration en nitrate résiduel dans la culture,
- $\Delta[NO_3]$, Δt : variation de la concentration en nitrate durant l'intervalle de temps Δt .

Le taux d'excrétion du nitrite a pour expression :

$$R_{NO_2} = -\frac{1}{B} \cdot \left(\frac{\Delta[NO_2]}{\Delta t} + d \cdot [NO_2] \right) \quad \text{VI.2}$$

où

- [NO₂] : concentration en nitrite dans la culture,
- $\Delta[NO_2]$, Δt : variation de la concentration en nitrite durant l'intervalle de temps Δt .

L'assimilation correspond à la différence entre les quantités d'azote absorbé et de nitrite excrété.

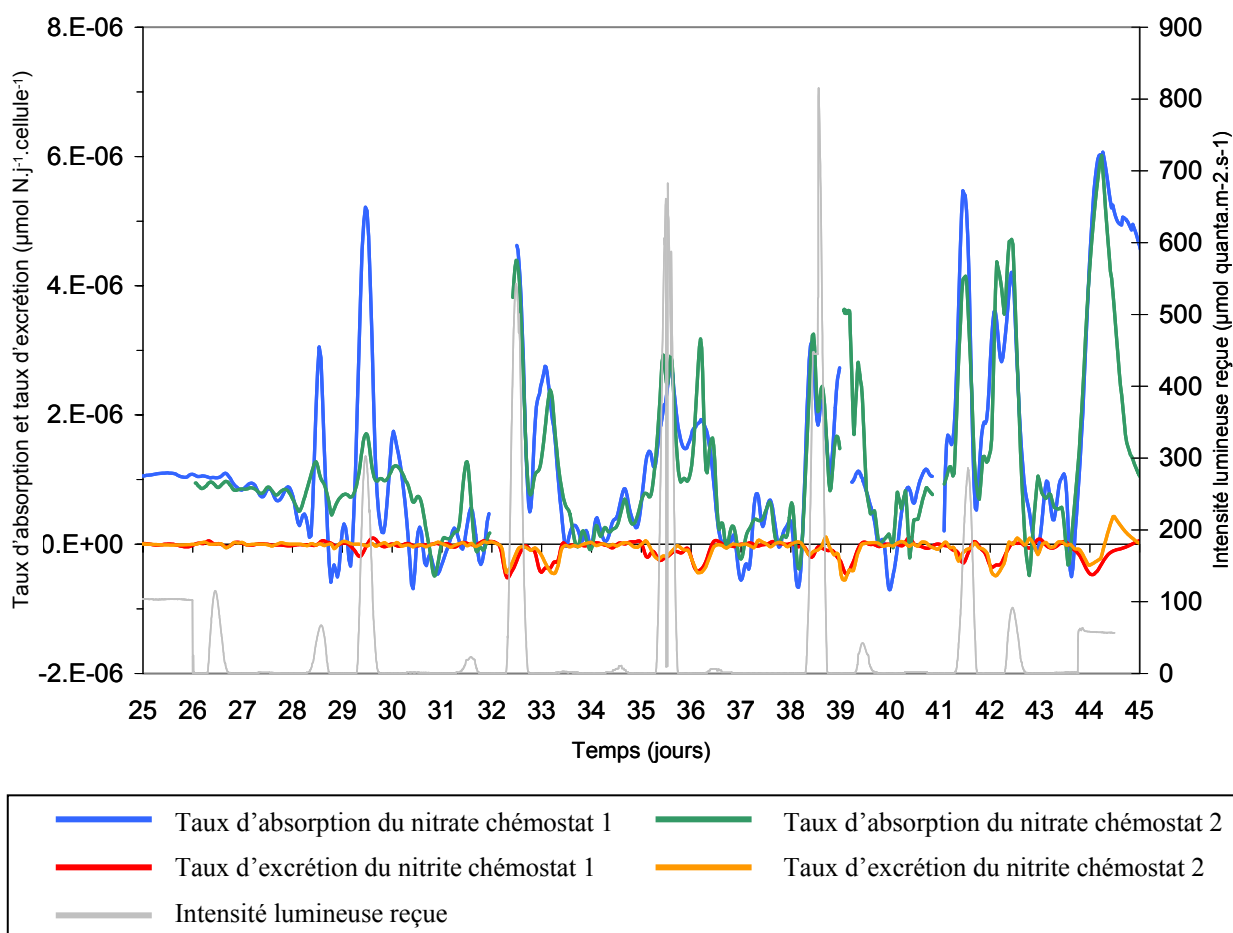


Figure VI-17 : Evolution des taux d'absorption du nitrate et d'excrétion du nitrite pour chaque chémostat. Les taux positifs correspondent à des flux d'azote vers la cellule (absorption) alors que les valeurs négatives correspondent à des flux d'azote qui quittent la cellule (excrétion).

c) Une relation complexe vis à vis de l'intensité lumineuse.

Les variations des taux d'absorption et d'excrétion (figures VI-17) , très reproductibles d'un chémostat à l'autre, reflètent un fort couplage avec l'intensité lumineuse. Ces taux sont plus élevées en phase d'éclairement qu'à l'obscurité. Cependant, ils ne sont pas liés directement à l'intensité du flux de photons. Entre les fortes intensités où les taux sont élevées et l'obscurité où les taux sont très faibles, les épisodes intermédiaires présentent des taux très variables sans rapport apparent avec l'intensité lumineuse. Dans tous les cas, la présence de lumière est nécessaire pour permettre l'absorption et l'excrétion. **Les phases d'absorption et d'excrétion n'apparaissent qu'en période d'éclairement et de façon relativement indépendante de l'intensité lumineuse.**

Les cycles de trois jours présentent toujours la même caractéristique. Lors d'un fort éclairement, le taux d'absorption est maximal pendant cette journée mais également lors de la journée suivante, et ce même si l'intensité lumineuse est très faible. En revanche, le jour suivant, le taux d'absorption est très faible. Ceci met en évidence le fait que **le second pic est sans doute déclenché par la présence de lumière mais que ce n'est pas l'intensité de celle-ci qui conditionne le taux d'absorption mais la forte intensité lumineuse du jour précédent.**

Ces observations suggèrent une sorte de rémanence de la capacité d'absorption acquise lors de la phase de fort éclairement. Sous forte intensité lumineuse, la cellule peut acquérir un pouvoir de réduction grâce à la photosynthèse. Cette capacité est ensuite utilisée pour l'assimilation du nitrate lors des phases de faible intensité lumineuse. Cette réserve permet à la cellule de conserver pendant un certain temps de séjour à l'obscurité la capacité à assimiler le nitrate.

d) Influence de la division cellulaire.

L'hypothèse faite précédemment suggère que la cellule peut accumuler un pouvoir réducteur qui favoriserait **temporairement** l'absorption du nitrate à faible lumière. Cependant, on observe que la nuit, même après un fort éclairement, les taux sont

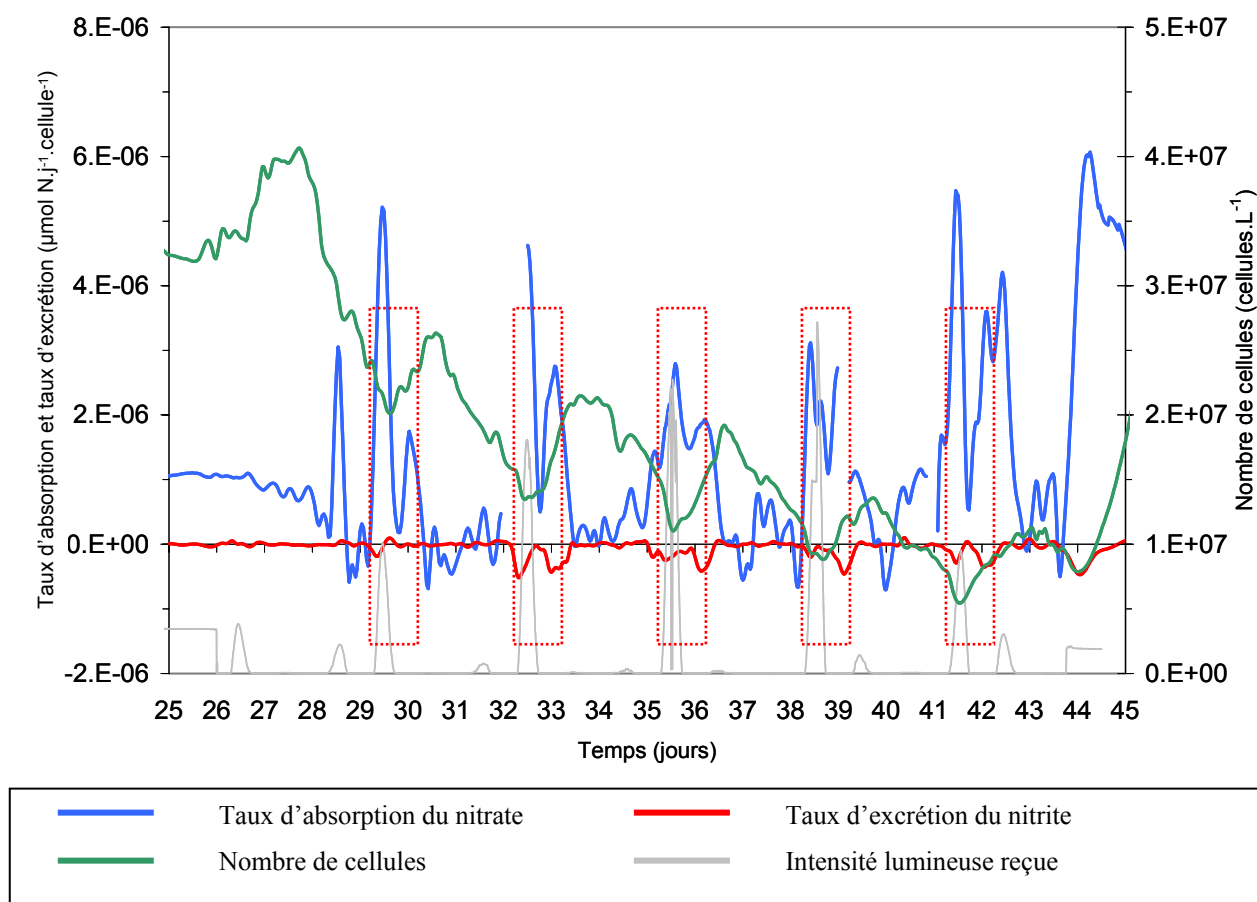


Figure VI-18 : Mise en évidence de l'effet de la division cellulaire sur l'absorption et l'excrétion des nitrites. Après un fort éclaircissement, l'absorption et l'excrétion sont bloquées au moment où le nombre de cellules commence à augmenter à cause de la division cellulaire (cadres rouges).

apparemment plus faibles (figure VI-17) ce qui contredit apparemment cette hypothèse et suggère qu'un autre facteur inhibe l'absorption.

En superposant le taux de division cellulaire avec le taux d'absorption, on voit que les périodes où l'absorption est la plus faible correspondent à celles où le taux de division est le plus élevé (figure VI-18). Les taux les plus bas sont en particulier atteints en début de division cellulaire. Les mêmes remarques peuvent également être faites en ce qui concerne le taux d'excrétion du nitrite. **Ces observations suggèrent que l'absorption du nitrate par les cellules est temporairement inhibée au moment de la division cellulaire.**

e) Conséquences pour l'azote particulaire total et les quotas.

Les cultures à l'équilibre présentent généralement un bilan en azote particulaire constant. Lorsque la croissance est limitée par le substrat, l'absorption est un flux constant de nitrate vers le milieu intracellulaire. Ici, la lumière module l'intensité de ce flux en modifiant le taux d'absorption et de l'assimilation du nitrate, une partie étant rejetée sous forme de nitrite dans le milieu. La quantité de nitrate assimilée par la cellule est donc très variable. La figure VI-19 montre que l'évolution du quota azoté est la conséquence de cette variation.

Le rapport azote/carbone particulaire tend à augmenter au cours de l'expérience (figure VI-20) en raison de l'accumulation d'azote dans la cellule. A l'échelle journalière, ce rapport diminue lors des phases d'éclairement et augmente en fin de journée pour atteindre une valeur relativement constante durant la période d'obscurité qui suit. L'évolution de ce rapport reste donc cohérente avec les propriétés du quota vis à vis de l'intensité lumineuse.

Le rapport entre chlorophylle *a* et azote particulaire (figure VI-21) décroît durant les journées d'éclairement en raison de la photoadaptation. Il augmente ensuite en fin de journée avec la synthèse de pigments. Le lendemain, la chlorophylle décroît mais le taux d'absorption reste très élevé ce qui va contribuer à faire diminuer le rapport. Enfin, le 3^{ème} jour, où le niveau d'éclairement est très faible, la cellule continue à accumuler de l'azote alors que la concentration cellulaire en pigments décroît ce qui induit une nouvelle baisse du rapport.

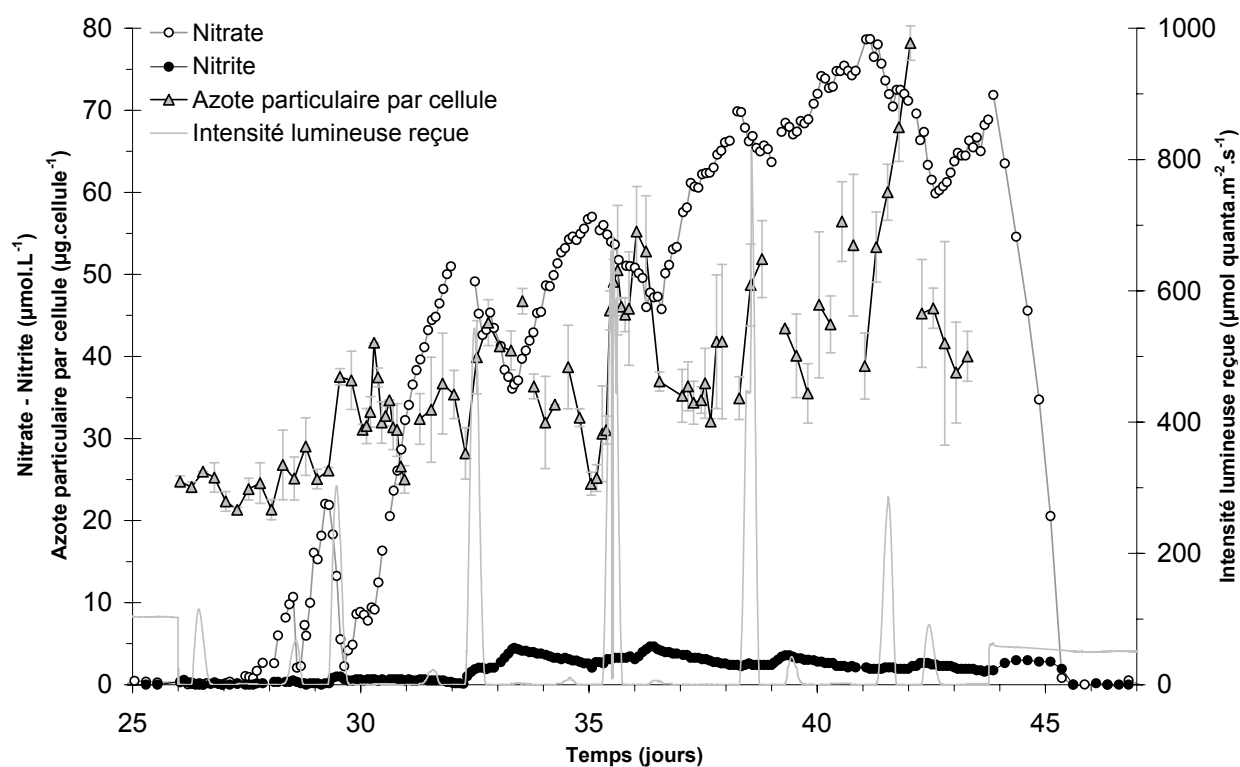


Figure VI-19 : Evolution des différentes formes azotées mesurées dans le chémostat n°1 : le nitrate présent dans les cultures est absorbé par la cellule. Une partie peut être rejetée sous forme de nitrite et la portion restante est assimilée par la cellule et constitue un apport supplémentaire d'azote particulaire. Les variations de ces paramètres montrent les relations entre ces différentes formes d'azote.

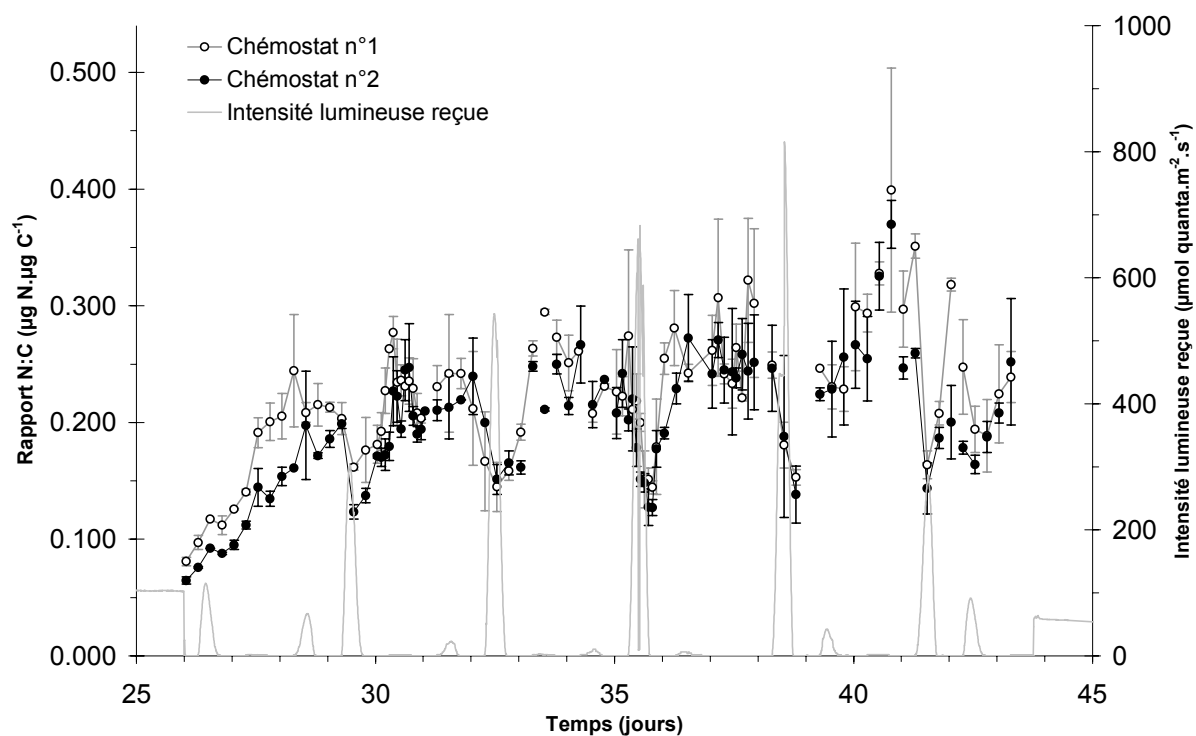


Figure VI-20: Fluctuations du rapport azote particulaire:carbone particulaire au cours de l'expérience.

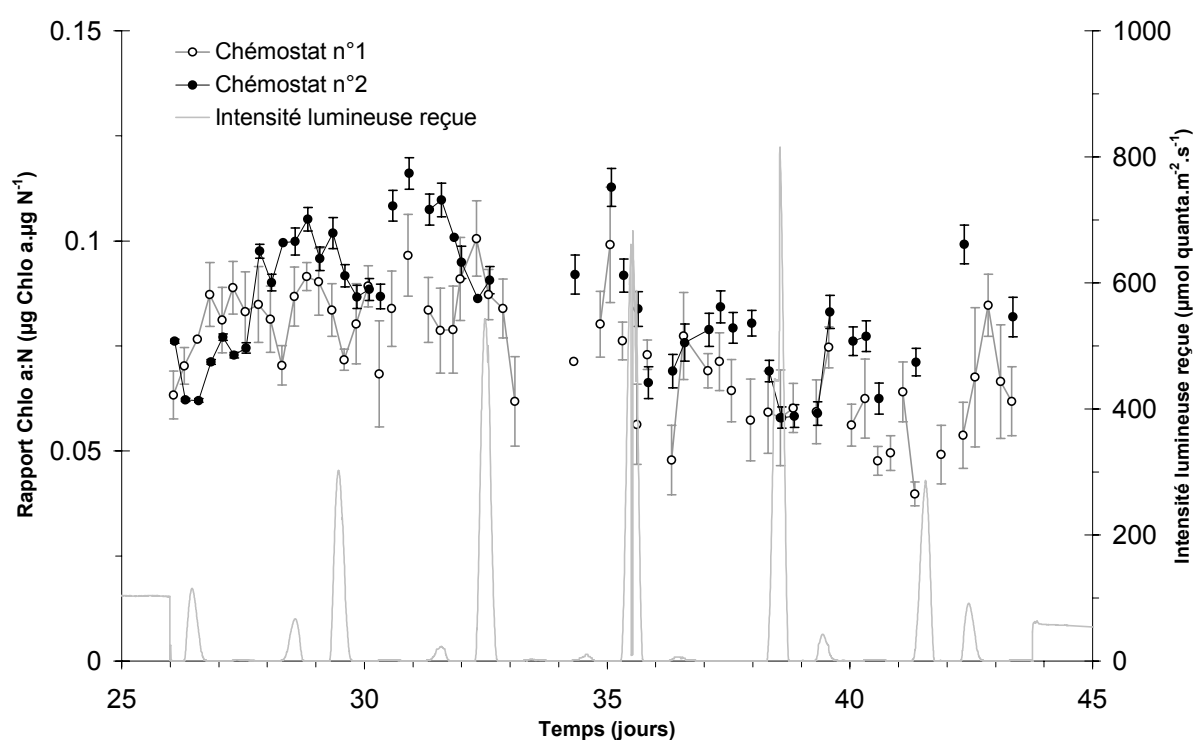


Figure VI-21 : Fluctuations du rapport chlorophylle *a* sur azote.

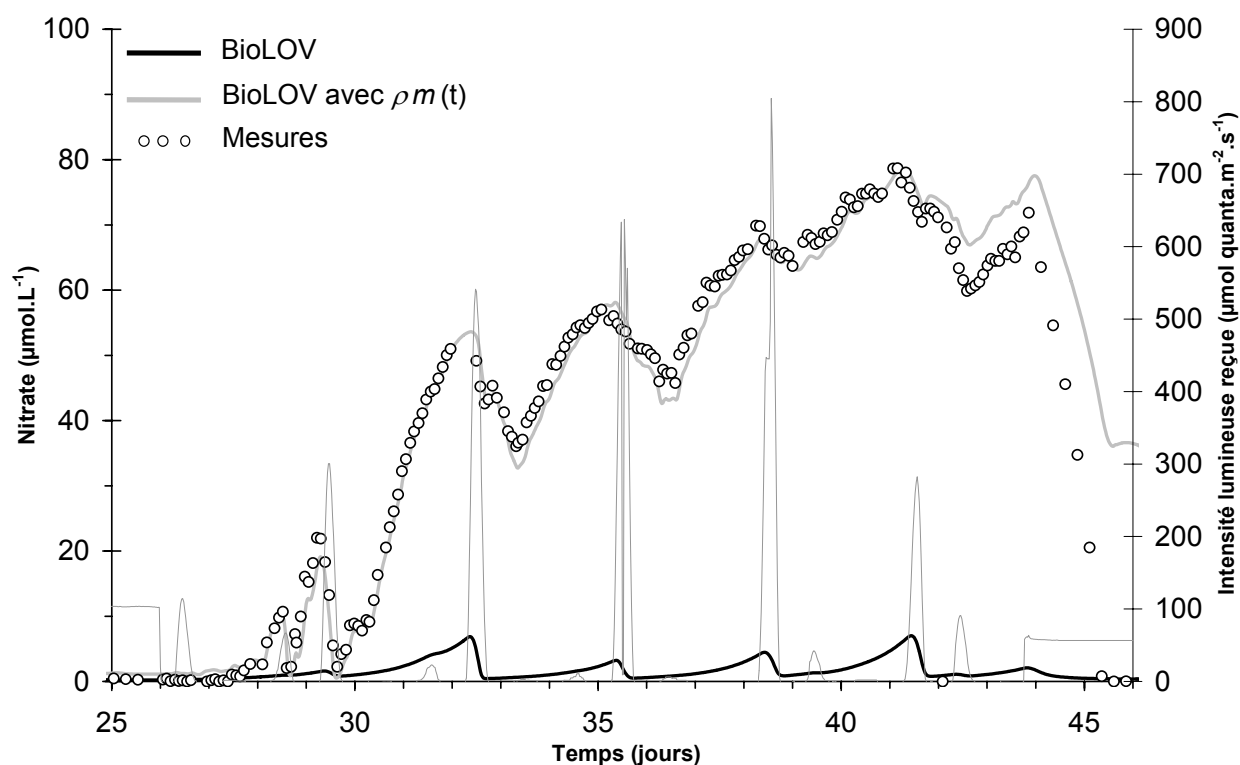


Figure VI-22 : Comparaison de la formulation standard de BioLOV aux mesures de nitrate (trait noir). La prise en compte d'un taux maximal d'absorption $\rho m(t)$ calculé à partir des observations permet d'améliorer grandement les simulations (trait grisé).

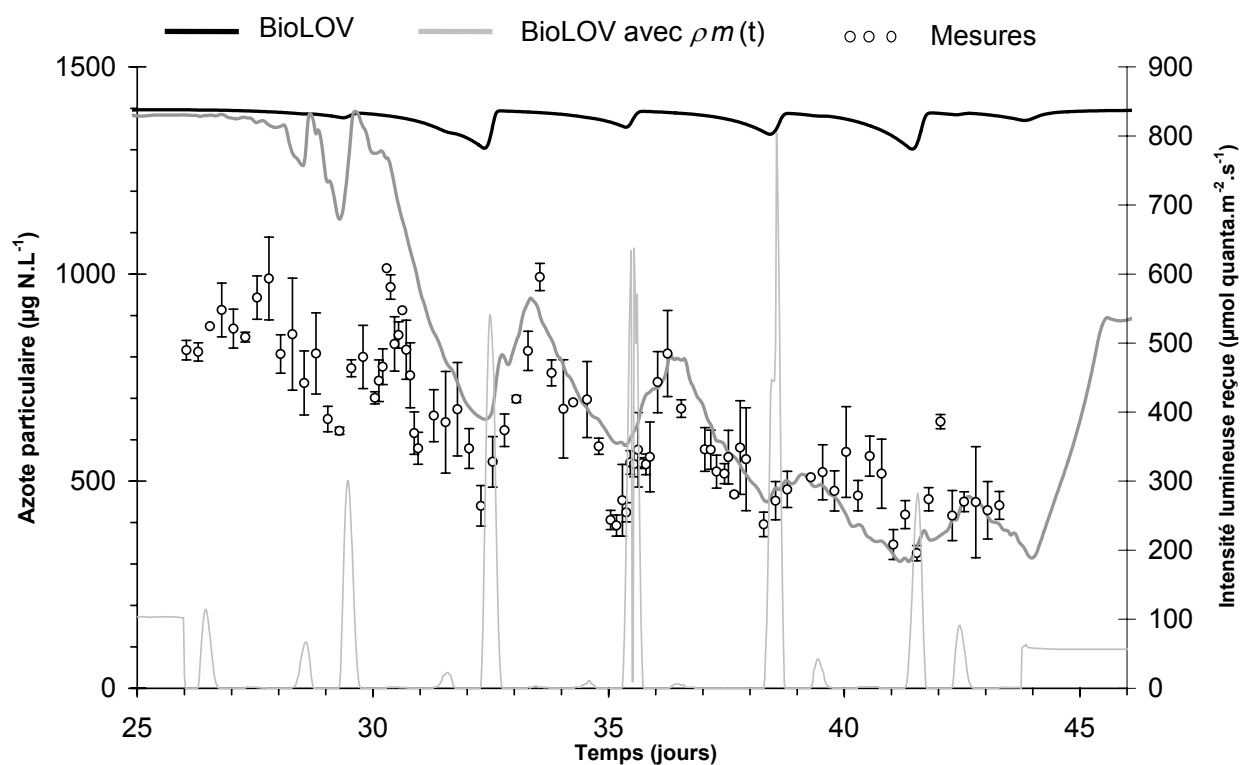


Figure VI-23 : Comparaison des concentrations en azote particulaire simulées par BioLOV aux données. BioLOV surestime l'azote particulaire à cause de la trop forte absorption du nitrate. La simulation réalisée avec $\rho m(t)$ est très proche des observations.

IV. Apports pour la modélisation.

Le fait que le nitrate soit non limitant est une situation nouvelle pour le modèle BioLOV qui n'a été jusqu'à présent confronté qu'à des situations de colimitations par l'azote et la lumière. L'expérience a montré la dépendance de l'absorption du nitrate par rapport à la lumière et l'influence de l'absorption sur les flux d'azote. Il s'agit donc maintenant de déterminer comment le fait de ne pas prendre en compte ce phénomène affecte les simulations. En effet, l'absorption dans BioLOV enrichit un pool d'azote qui est utilisé directement pour la synthèse des pigments. Par conséquent, l'absorption est un processus dont la représentation peut être cruciale pour la qualité des simulations.

IV.1. Comportement de BioLOV dans le cas d'un milieu non limité par le nitrate.

Dans un premier temps, nous considérons le modèle BioLOV sans aucune modification de sa formulation initiale ou de la valeur de ses paramètres. Le forçage lumineux est celui mesuré au centre de la culture. *Sin* est fixé à 100 μM de nitrate et la dilution à $0,35 \text{ j}^{-1}$. Les simulations présentent des résultats peu satisfaisants (figures VI-22 à VI-25) car le substrat est presque entièrement absorbé. Il apparaît un peu lors des phases d'obscurité en raison de la diminution de la biomasse durant la nuit. L'azote particulaire bénéficie de l'absorption continue, et est à concentration proche de *Sin*. Les concentrations en chlorophylle et le carbone sont surestimées. Les évolutions des quotas en azote (figure VI-26) et en chlorophylle (figure VI-27) sont en revanche cohérentes avec les observations.

Le modèle n'est donc pas capable de refléter la croissance du phytoplancton dans ce type d'environnement variable. Les différences entre observations et simulations traduisent une mauvaise représentation de l'absorption du nitrate. Les écarts

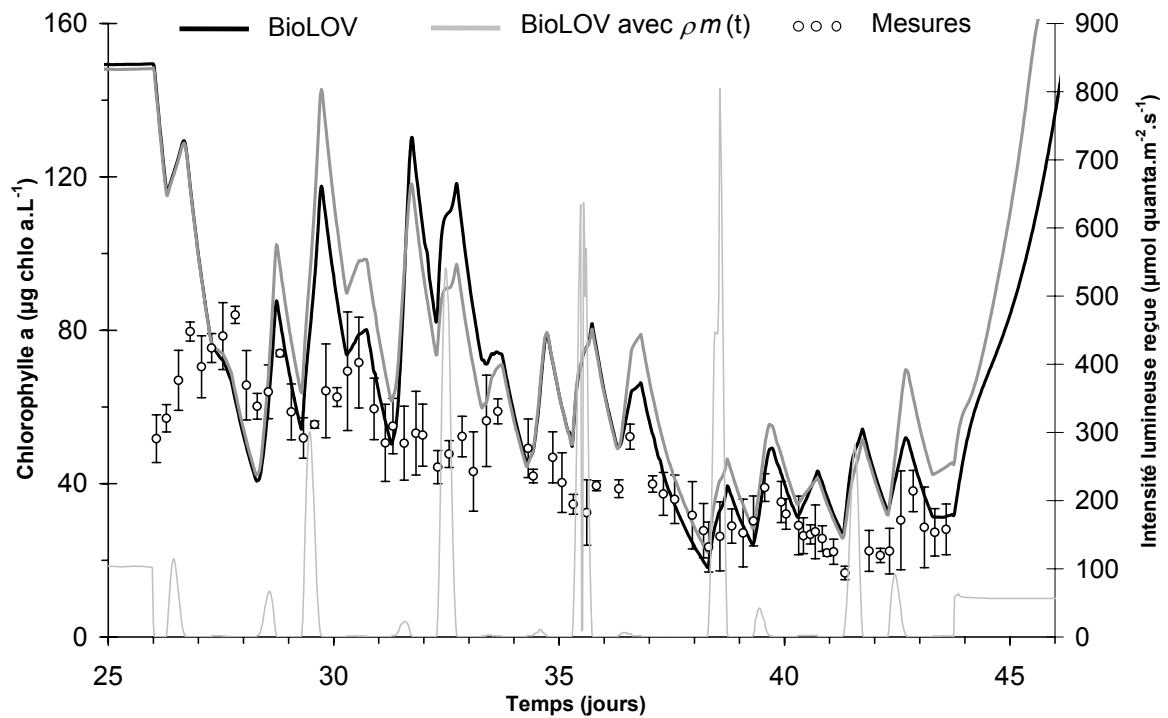


Figure VI-24 : La concentration en chlorophylle *a* est surestimée par rapport aux observations.

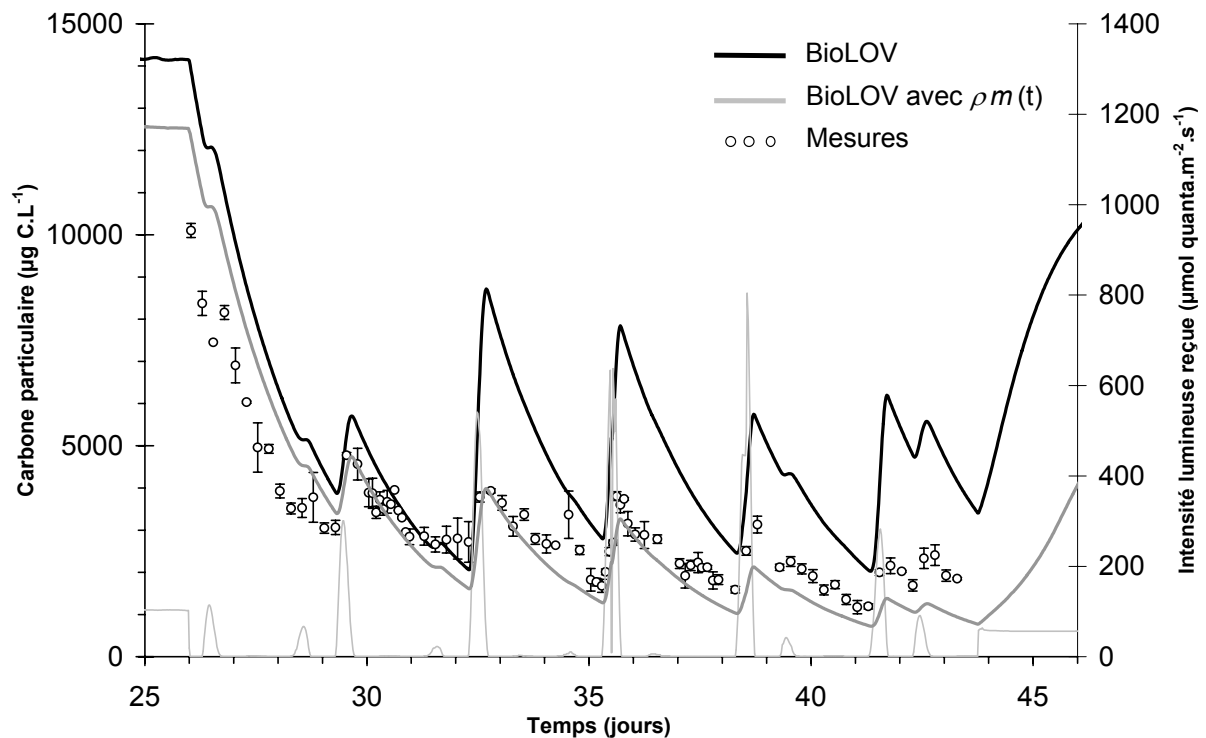


Figure VI-25 : Comparaison du carbone particulaire simulé aux observations. Cette variable suit un comportement qualitatif cohérent vis à vis des observations mais est néanmoins surestimée. La formulation de BioLOV avec $\rho m(t)$ permet d'obtenir des simulations plus proches des observations.

d'absorption apparaissent comme responsables de la surestimation des autres variables qui dépendent directement (azote particulaire, chlorophylle) ou indirectement (carbone particulaire) des flux d'azote dans la cellule.

IV.2. Couplage entre l'absorption et la photosynthèse.

La plupart des modèles de croissance ne prennent pas en compte l'influence du flux de photons sur les mécanismes de l'absorption. La cinétique d'absorption est généralement représentée par une relation de Michaelis-Menten qui ne dépend que de la quantité de substrat présent dans le milieu. Les résultats de cette expérience et les simulations remettent en cause cette représentation. Nous allons ici tacher d'améliorer les propriétés du modèle BioLOV en intégrant la lumière dans le processus d'absorption. La relation entre absorption et lumière étant complexe, il s'agit de trouver un compromis entre la recherche de réalisme et une modification de la formulation du modèle BioLOV la plus simple possible.

a) Intégration d'un taux d'absorption dépendant de la lumière dans BioLOV: une approche empirique.

L'expérience présentée dans ce chapitre a permis d'estimer l'évolution du taux d'absorption maximal ρm sur une période de 18 jours et à raison d'un dosage toutes les 4 heures. Nous connaissons donc l'évolution temporelle $\rho m(t)$ du taux d'absorption maximal à partir des variations de la concentration en nitrate et des estimations de la concentration en carbone particulaire obtenues à partir des mesures de biovolume. $\rho m(t)$ est uniquement issu des observations, et est donc indépendant de l'identification des autres paramètres, ceux-ci ayant également été identifiés indépendamment de ρm (voir chapitre V).

Une simulation est réalisée en considérant que le paramètre ρm de BioLOV prend les valeurs de $\rho m(t)$ qui ont été identifiées directement à partir de l'expérience. Le comportement du modèle est contraint à la fois par la lumière et par l'évolution réelle du taux d'absorption.

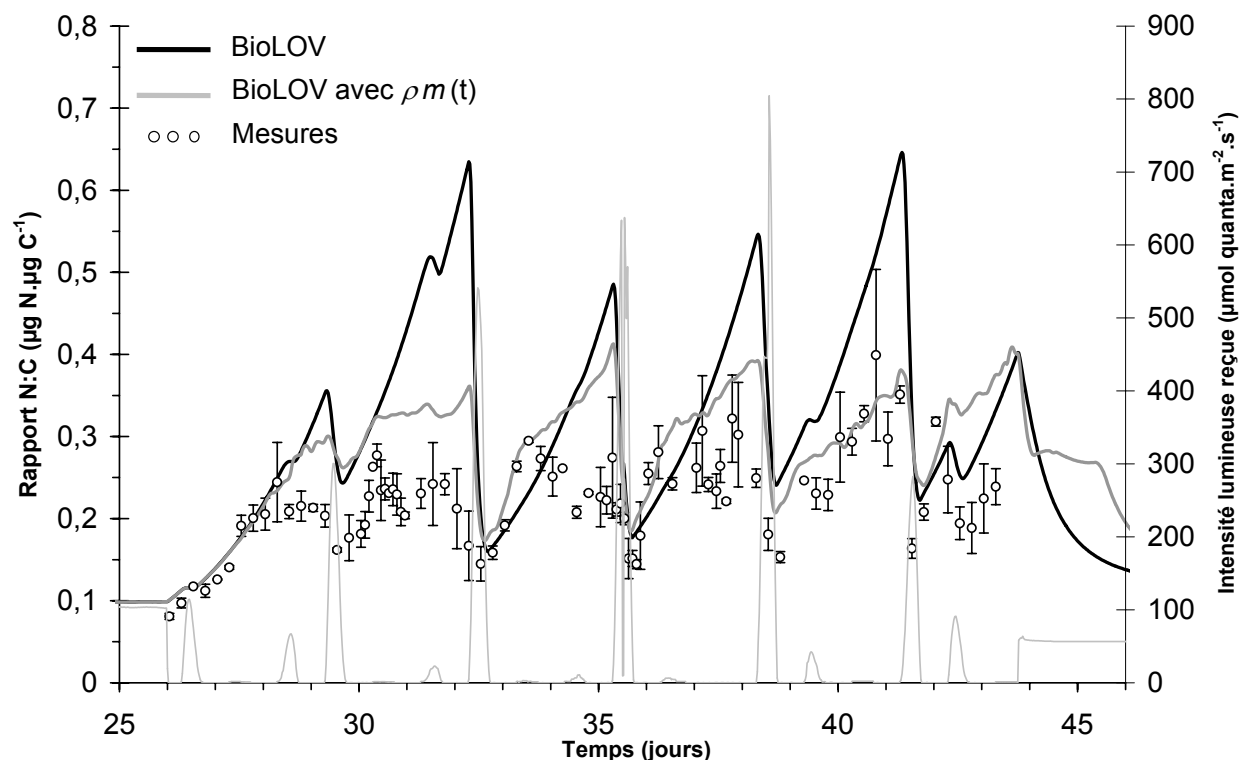


Figure VI-26 : Simulation du rapport azote sur carbone. Le comportement qualitatif est cohérent mais ce rapport est grandement surestimé. L'utilisation de $\rho m(t)$ améliore là aussi grandement les simulations.

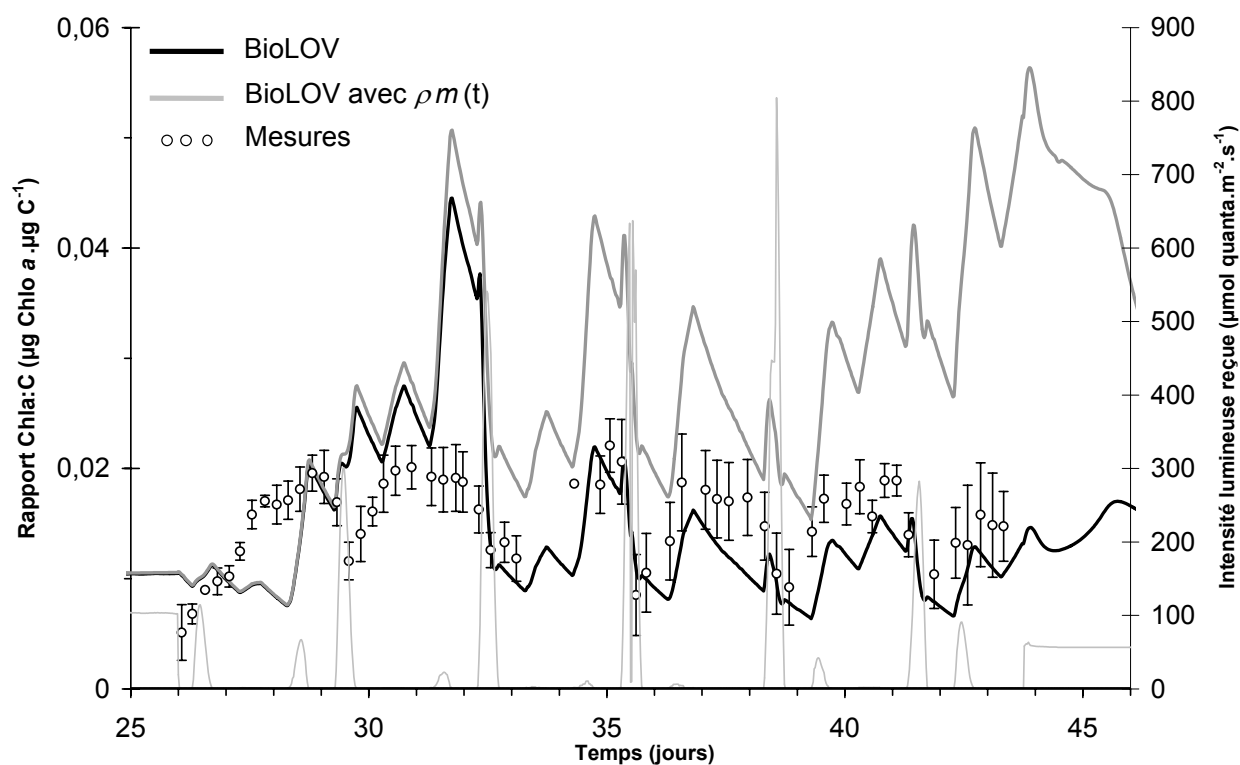


Figure VI-27 : Simulation du rapport chlorophylle sur carbone. Ce rapport présente un comportement et un ordre de grandeur proche des observations pour BioLOV. En revanche, la simulation avec $\rho m(t)$ tend à surestimer ce rapport.

L'ensemble des variables tendent à reproduire correctement les observations (figures VI-22 à VI-25). Le quota interne en azote est correctement représenté (figure VI-26). Le quota chlorophyllien est qualitativement proche des observations (figure VI-27) bien que ses variations soient plus marquées et qu'il tende à être légèrement surestimé.

Cette simulation met donc en évidence le rôle clé de l'absorption sur les sorties du modèle BioLOV dans le cas où le nitrate n'est pas limitant pour la croissance. Elle confirme aussi, grâce au bon ajustement du modèle aux données, que les hypothèses et les valeurs des paramètres issues de l'identification à l'équilibre restent valables dans cette situation.

b) Modélisation de l'absorption du nitrate : l'interaction entre processus continus et discrets.

Les observations montrent que la lumière agit à deux niveaux sur l'absorption.

D'une part, l'intensité lumineuse conditionne l'absorption du nitrate. La lumière déclenche l'absorption, et, en période d'éclairement, les cellules acquièrent une capacité d'absorption qui dépend du flux de photons. L'absorption peut ensuite se poursuivre pendant un temps même pour des flux lumineux faibles. Ces processus pourraient être modélisés finement par exemple en intégrant à BioLOV une réserve de "pouvoir réducteur" issue de la photosynthèse qui serait utilisée pour l'absorption. Cette approche, bien que compliquant la structure du modèle, serait compatible avec la philosophie de BioLOV où les échanges de matière sont continus entre les différents pools fonctionnels.

D'autre part, les observations suggèrent fortement que la division cellulaire peut interrompre l'absorption. Ceci pose un problème de représentation dans la mesure où le cycle cellulaire n'est pas pris en compte dans BioLOV, et qu'il s'agit d'un processus cellulaire discret qu'on observe à l'échelle de la population uniquement parce que les cellules sont synchronisées. Ce phénomène peut induire des biais dans les simulations et pose également le problème de l'influence de la division sur certains processus physiologiques représentés dans les modèles.

Nous sommes donc confrontés à un problème de représentation, car il s'agit d'intégrer dans un modèle continu, un phénomène discret, en l'occurrence la division cellulaire.

c) Une modélisation simplifiée de l'absorption.

Le problème de l'intégration du cycle cellulaire dans le modèle peut être contourné si **l'on pose l'hypothèse simplificatrice que l'absorption est entièrement inhibée à l'obscurité**. En fait, un examen attentif des observations montrent qu'il peut y avoir parfois absorption même à quasi-obscurité mais dans tous les cas, l'absorption est inhibée au moment de la division qui intervient exclusivement pendant la nuit. Par conséquent, nous faisons un raccourci en posant que l'absence de lumière se traduit par un arrêt de l'absorption sans perdre de vue que dans la réalité, ce n'est pas l'obscurité qui empêche l'absorption mais la division cellulaire. A l'inverse, aux fortes intensités, les taux d'absorption sont les plus élevés. A défaut de pouvoir expliquer comment agit la lumière sur l'absorption, **nous posons l'hypothèse que l'absorption est saturée par rapport au flux de photons aux fortes intensités et ne dépend alors que de la concentration en substrat**.

Ces hypothèses plaident en faveur d'une représentation du taux d'absorption dépendante à la fois de la concentration en substrat et de l'intensité lumineuse selon des cinétiques respectives de type michaéliennes :

$$\rho(S,I) = \rho_m \cdot \frac{I}{I + kipm} \cdot \frac{S}{S + ks} \quad (VI.3)$$

Le terme $kipm$ est un coefficient de demi-saturation. Pour respecter les hypothèses précédentes mais également pour tenir compte du fait qu'après un fort éclaircissement, la journée de faible éclaircissement se traduit également par une absorption importante, il est nécessaire que l'absorption soit très rapidement saturée vis à vis de la lumière. Pour cela, $kipm$ doit être très petit par rapport à l'intensité lumineuse. Compte tenu des données, nous l'avons fixé à $1,5 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. $kipm$ est un paramètre technique qui permet une activation ou une désactivation quasi-booléenne de l'absorption entre le jour et la nuit.

Cette formulation satisfait les hypothèses précédentes. En effet :

- lorsque $I=0$: $\rho m(S,0) = 0$. Il n'y a pas d'absorption à l'obscurité ($\approx$ division cellulaire. Cf remarques de la page précédente).
- lorsque $I \gg k_{ipm}$: $\rho(S,I) \approx \rho m \cdot \frac{S}{S + k_s}$. L'absorption est indépendante de l'intensité lumineuse et ne dépend alors que du substrat.
- lorsque I est proche de k_{ipm} : la situation est intermédiaire comme pour les observations.

Cette modification n'altère pas fondamentalement le comportement du modèle à l'équilibre car S^* est très petit par rapport à S_{in} . Dès que l'irradiance est supérieure à $10 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, les propriétés du modèle sont très proches de celles de BioLOV. Les modifications ont pour but essentiellement d'inhiber l'absorption durant la nuit. Le jour, l'intensité est généralement très supérieure à la valeur de k_{ipm} ce qui rend le taux absorption indépendant de l'intensité lumineuse. La formulation de BioLOV devient donc :

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_{in} - S) - \rho m \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot \frac{I}{I + k_{ipm}} \cdot C \quad (\text{VI.4})$$

$$\frac{dN}{dt} = -D \cdot N + \rho m \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot \frac{I}{I + k_{ipm}} \cdot C - a(I) \cdot \frac{L}{C} \cdot k(I) \cdot N + \beta \cdot L \quad (\text{VI.5})$$

$$\frac{dL}{dt} = -D \cdot L + a(I) \cdot \frac{L}{C} \cdot k(I) \cdot N - \beta \cdot L \quad (\text{VI.6})$$

$$\frac{dC}{dt} = -D \cdot C + a(I) \cdot L - \lambda \cdot C \quad (\text{VI.7})$$

Cette formulation est testée au moyen d'une simulation dont les conditions sont les mêmes que dans le paragraphe VI.1 . Ceci permet de comparer l'ancienne et la nouvelle formulation. Les résultats obtenus pour la nouvelle formulation sont fidèles dans l'ensemble

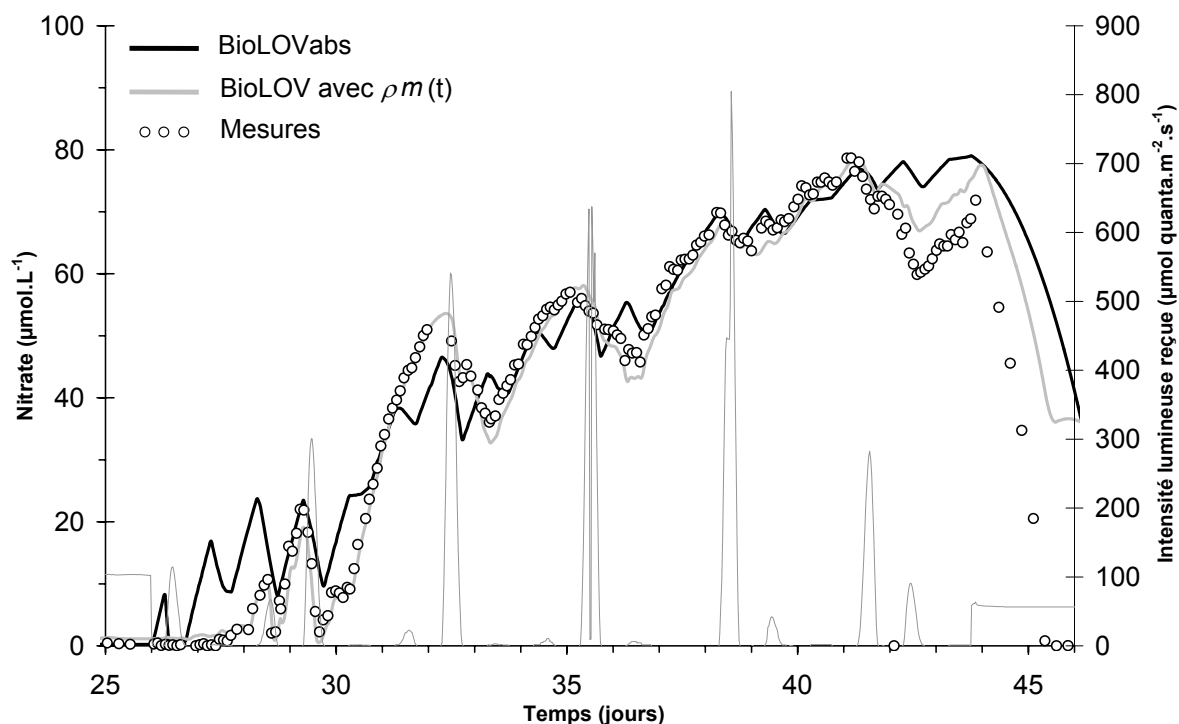


Figure VI-28 : Confrontation de l'évolution de la concentration en nitrate simulée par rapport aux observations dans le cas du modèle BioLOV modifié ("BioLOVabs") où l'absorption est dépendante de l'intensité lumineuse. Le modèle présente un comportement cohérent avec les observations et reproduit les grandes tendances observées expérimentalement.

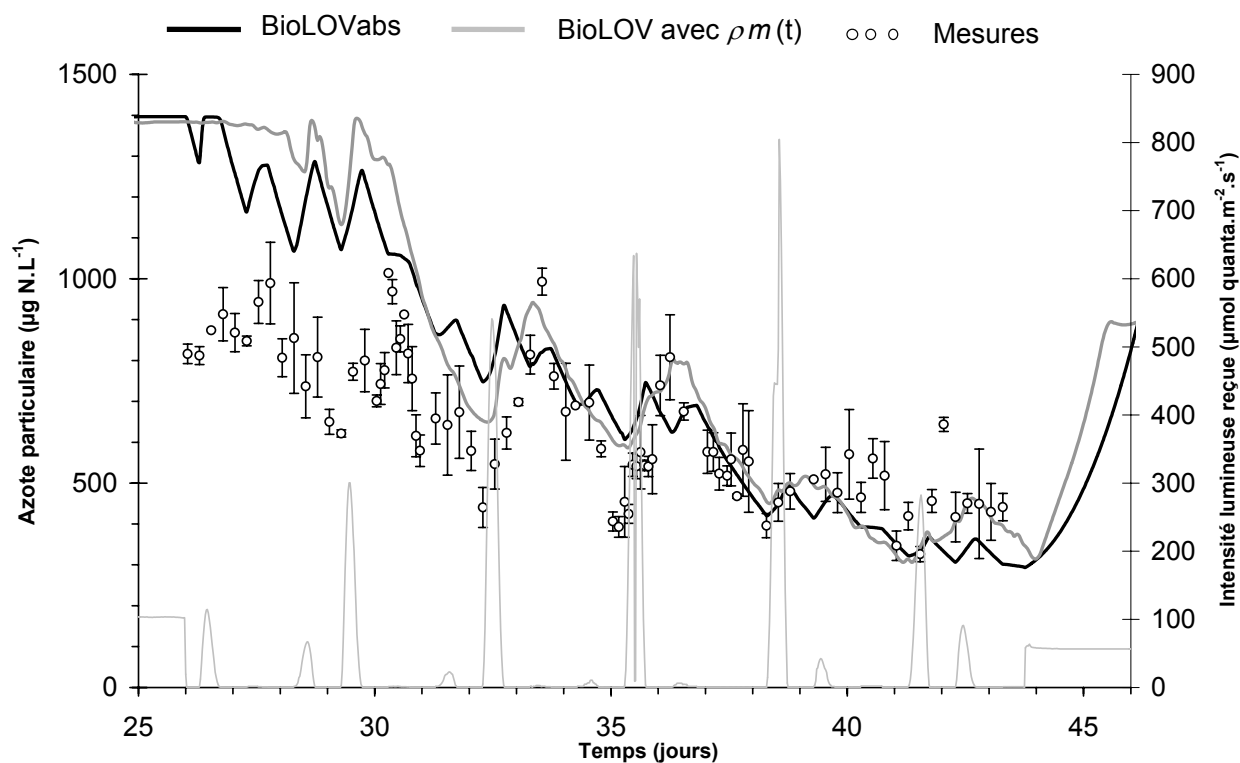


Figure VI-29 : Evolution de l'azote particulaire total simulé. Les comportement qualitatif et les ordres de grandeurs sont comparables par rapport aux observations.

aux observations (figures VI-28 à VI-33) et bien plus proches des observations que la formulation initiale de BioLOV pour l'ensemble des variables et quotas. **Les modifications apportées à BioLOV permettent donc d'obtenir des simulations cohérentes en n'ajoutant qu'un seul paramètre au modèle, et sans avoir besoin de réaliser une nouvelle identification. Les modifications ne changent pas fondamentalement les propriétés et les méthodes d'identification de BioLOV à l'équilibre.**

V. Synthèse et discussion.

Cette expérience avait pour but d'étudier la croissance des algues et leur photoadaptation lors de mouvements convectifs dans une couche de mélange profonde. Les résultats obtenus sont riches en information à la fois concernant la biologie des cellules mais également pour la modélisation, et ce, grâce à une expérience originale.

V.1. Une expérience originale.

Cette expérience présente la particularité de créer les propriétés essentielles d'un mouvement langrangien dans une couche de mélange profonde. L'innovation a consisté à étudier la croissance du phytoplancton dans un environnement où nitrate et lumière varient simultanément.

De nombreux auteurs ont étudié la réponse photoadaptative du phytoplancton au brassage de la colonne d'eau (Marra, 1978a,b ; Gallegos & Platt, 1982 ; Falkowski, 1983 ; Lewis *et al.*, 1984 ; Yoder & Bishop, 1985) mais, ils se sont généralement limités à la prise en compte du facteur lumière au travers d'expérience d'incubation *in situ* à différentes profondeurs. Davidson *et al.* (1999) ont, quant à eux, considéré des expériences au laboratoire sous différentes conditions de température, sels nutritifs et irradiances. La plupart des

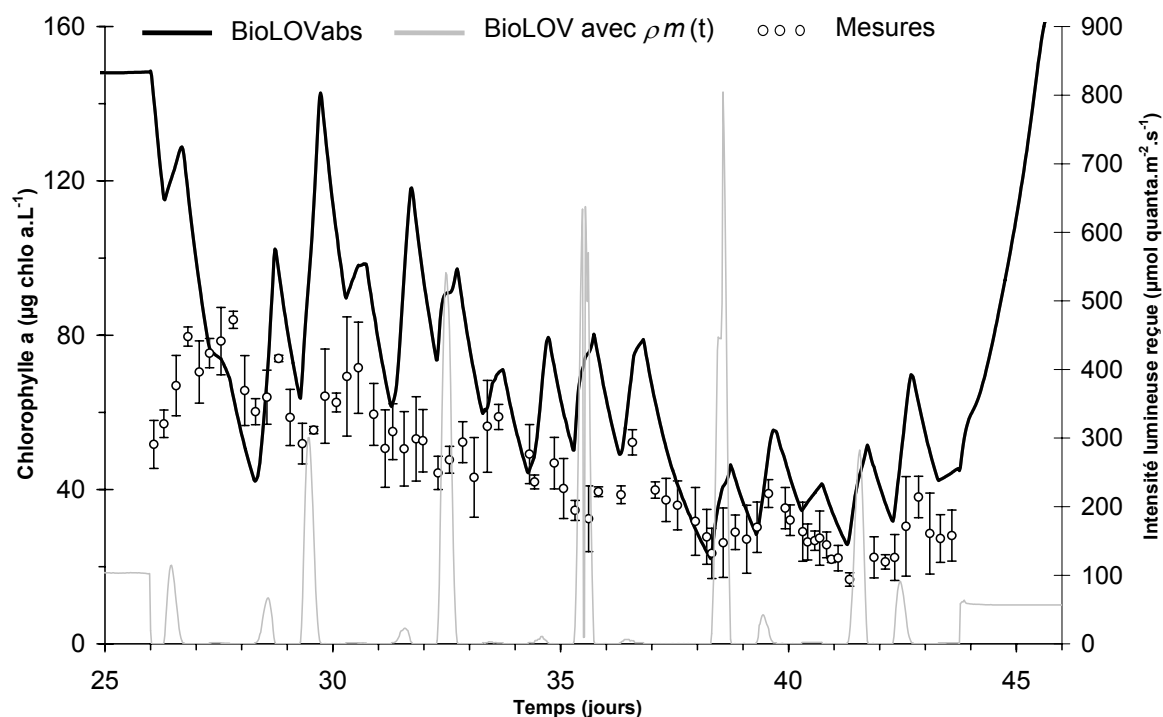


Figure VI-30 : Evolution de la chlorophylle simulée. Les observations sont relativement bien représentées par le modèle. BioLOVabs se calque parfaitement sur les estimations obtenues avec BioLOV associé à $\rho m(t)$.

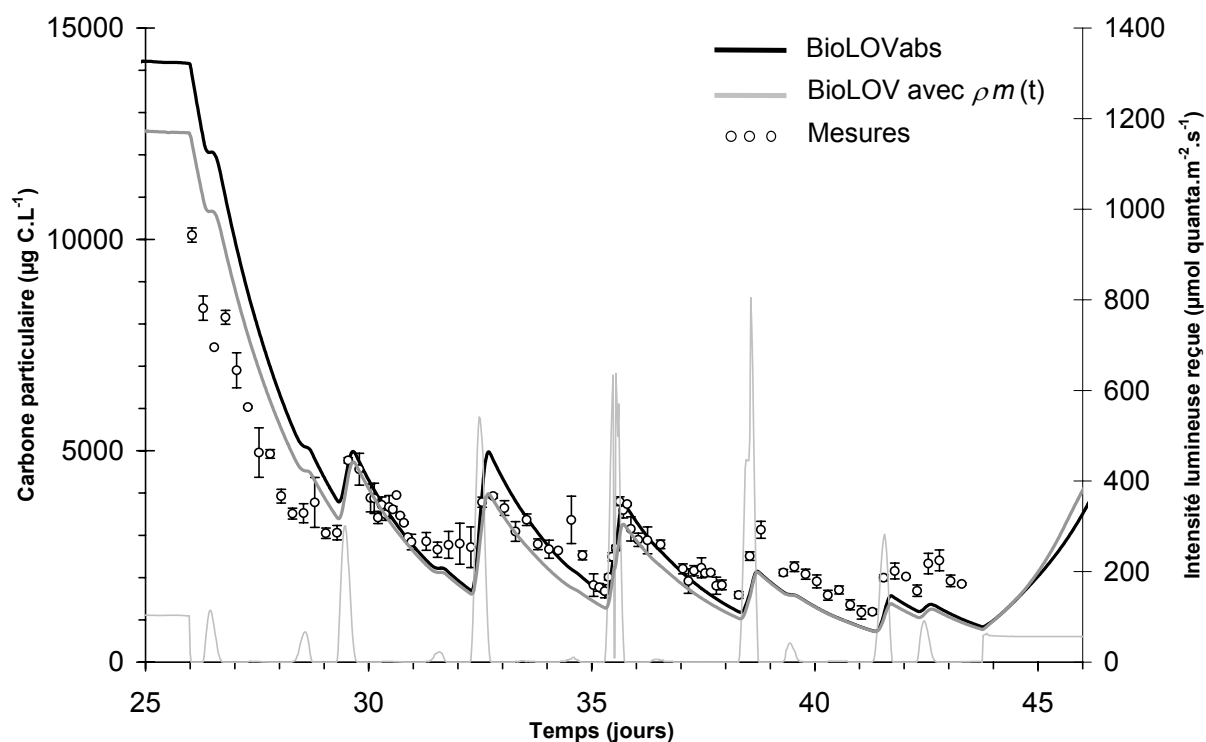


Figure VI-31 : Simulation du carbone particulaire. BioLOVabs reproduit fidèlement les observations.

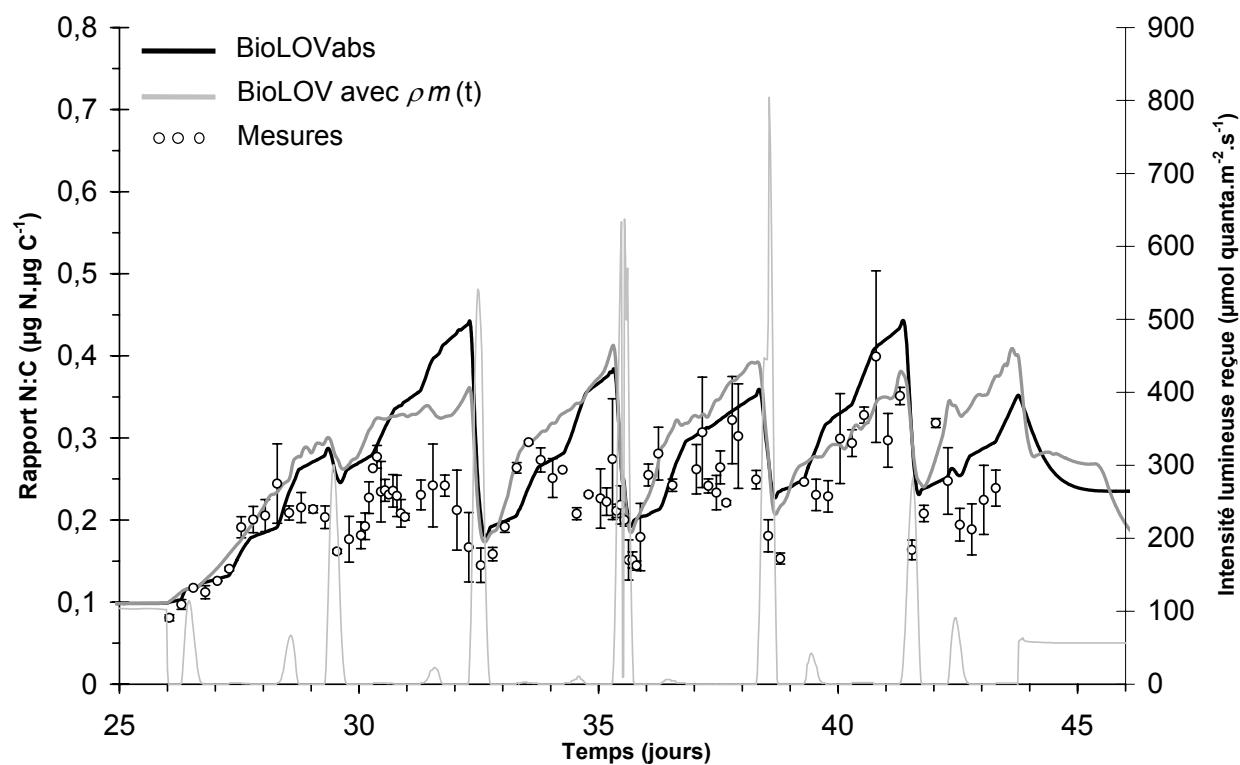


Figure VI-32 : Evolution du quota en azote particulaire. BioLOVabs évolue de façon cohérente vis à vis des observations.

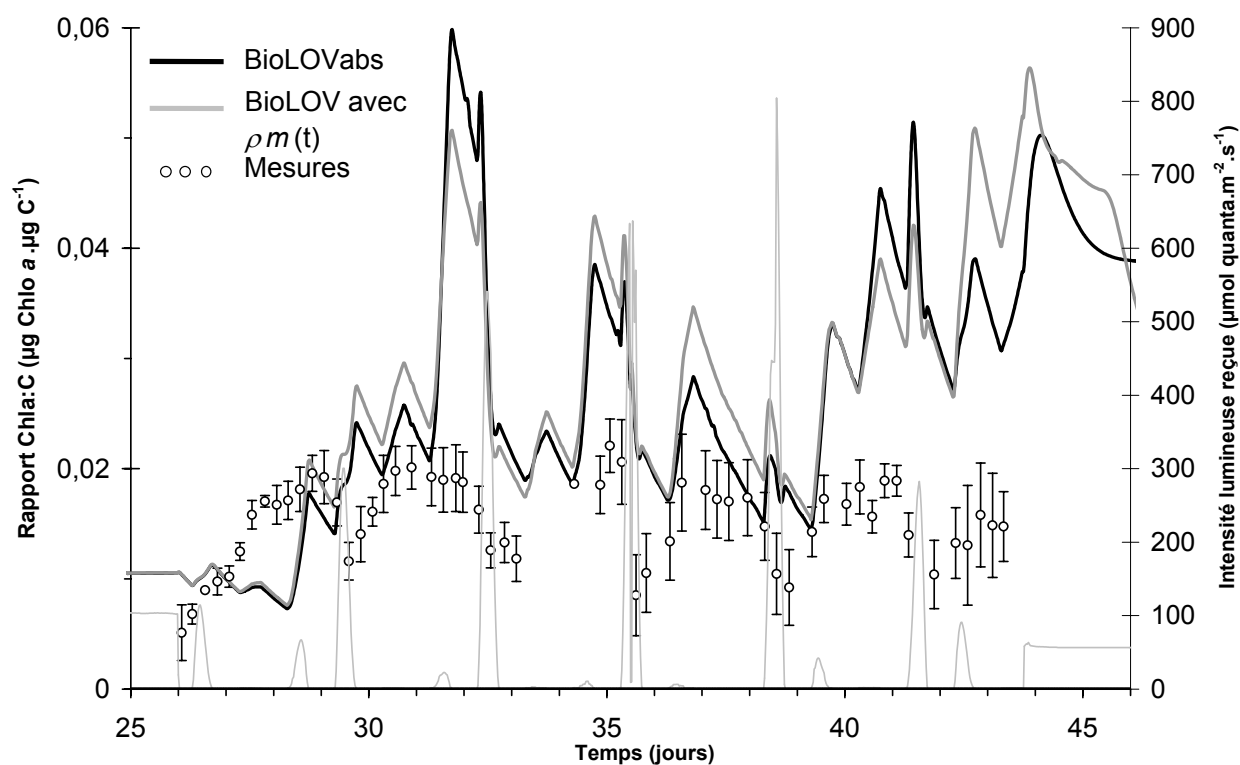


Figure VI-33 : Evolution du quota chlorophyllien. Bien que les ordres de grandeurs soient généralement correct, certains épisodes sont largement surestimés.

expériences citées reposent sur des cycles lumineux constants avec atténuation de l'intensité avec la profondeur. L'expérience menée par Marra (1978a) présente l'originalité d'intégrer une atténuation variable de la lumière qui se surimpose au cycle journalier. Ces variations ont des échelles de temps inférieures à la journée, et peuvent être interprétées comme des déplacements à haute fréquence des cellules dans la colonne d'eau. Notre expérience se distingue de celle de Marra par le fait que le cycle lumineux qui se surimpose au cycle journalier a une période bien supérieure (76,6 h) à la journée, de sorte que les cellules doivent s'adapter à des périodes prolongées d'obscurité (ce qui n'est pas le cas dans l'expérience de Marra).

La façon dont nous envisageons l'évolution des cellules dans le milieu est également différente. En effet, la plupart des expériences considère la croissance phytoplanctonique à différentes profondeurs. Cette approche a abouti à de nombreux modèles de photoadaptation qui reposent en grande partie sur la disponibilité de données *in situ* à l'aide d'expériences d'incubation ou de profils verticaux de la colonne d'eau acquis lors de missions en mer. Pour tenir compte du mouvement des cellules, certaines expériences ont consisté à déplacer les bouteilles d'incubation dans la colonne d'eau (Marra, 1978b ; Savidge, 1980). Les résultats obtenus étaient selon les cas sur- ou sous-estimés par rapport à la production primaire estimée à partir des méthodes d'incubations classiques. Selon Marra (1978b), les fluctuations d'irradiance liées aux mouvements dans la colonne d'eau pourraient augmenter la production primaire intégrée sur la verticale. Il n'y a donc pas de conclusions claires sur les différences de production entre des incubations à profondeurs fixes ou déplacées dans la colonne d'eau.

L'approche choisie pour cette expérience est lagrangienne. Elle considère la composante verticale de la trajectoire de cellules dans une colonne d'eau et « l'historique des apports lumineux » reçus par chaque cellule au cours de son déplacement (Falkowski & Wirick, 1981; Woods & Onken, 1982). L'approche lagrangienne a souvent été écartée, en expérimentation ou en modélisation. Les expériences *in situ* d'incubation sont techniquement plus simples à réaliser. Elles apportent une vision de la production primaire à différents niveaux de la colonne d'eau mais ne sont pas pour autant exactes ni précises dans la mesure où il n'y a pas d'échanges (de cellules, de substrat) entre les milieux d'incubations et la colonne d'eau. La composante dynamique des masses d'eau n'est donc pas prise en compte. Cependant, cette lacune n'empêche pas le développement de modèles eulériens de la production primaire dans la colonne d'eau. Ces modèles sont généralement privilégiés par

rapports aux modèles lagrangiens qui nécessitent davantage de calculs pour des gains de précisions variables (voir les intercomparaisons des deux approches par Lande & Lewis, 1989 et McGillicuddy, 1995). Les modèles eulériens sont aussi privilégiés car ils s'appliquent mieux à des questions relativement à la production primaire dans la globalité de la colonne d'eau.

L'approche eulérienne est généralement perçue comme une représentation des caractéristiques photoadaptives moyennes issues des propriétés individuelles d'un très grand nombre de cellules qui ont chacune une histoire différente (Lande et Lewis, 1989). L'approche lagrangienne considère, elle, l'histoire d'un nombre restreint de cellules en déplacement et qui reçoivent les mêmes apports de lumière, température et sels nutritifs. Par conséquent, développer un modèle lagrangien est intimement lié à la nécessité préalable de connaître le déplacement de la population de cellules, et c'est précisément la difficulté majeure de ce type d'approche. Cette information est en effet difficile à acquérir dans le milieu marin et il est tout aussi difficile de concevoir un cadre expérimental capable d'approcher la variabilité des paramètres environnementaux associés à ces trajectoires. Un autre point est que les modèles lagrangiens sont difficilement comparables à des données. Par exemple, Farmer & McNeil (1999) ont proposé une étude théorique de la photoadaptation réalisée à partir de trajectoires estimées à l'aide de flotteurs neutres, mais ne disposaient d'aucune donnée permettant de comparer leur étude à la réalité. En fait, ces modèles sont difficiles à comparer avec la réalité car les observations dans l'espace du milieu marins sont réalisées en des points précis où les prélèvements d'eau contiennent des populations phytoplanctoniques ayant toutes une histoire différente (Janowitz & Kamykowski, 1999; Kamykowski, 1999).

Cette expérience est novatrice car elle permet d'envisager au laboratoire le mouvement lagrangien de cellules. Elle offre la possibilité de créer un cadre plus réaliste où l'on peut étudier à haute fréquence les propriétés des cellules, connaissant l'historique des conditions qu'elles ont rencontrées. Cette expérience constitue également une source de mesures pour tester le modèle BioLOV en régime dynamique de lumière. L'approche lagrangienne est opportune ici car elle permet de tester des hypothèses relatives à la biologie de la cellule, notamment la photoadaptation, et de participer ainsi à l'amélioration du modèle BioLOV dont une des finalité est d'être intégré à des ensembles plus complexes comme les modèles biogéochimiques.

V.2. Des propriétés émergentes.

Le fait de réaliser des cultures sous un régime lumineux variable révèle des propriétés différentes de celles que l'on obtient avec un éclairage continu ou cyclique. Un éclairage continu permet d'estimer la réponse des algues à différents niveaux de lumière mais ne révèle rien sur leur cinétique d'adaptation à ces changements d'éclairage. Un éclairage cyclique régulier met en évidence l'adaptation diurne des espèces mais ne permet pas de distinguer des variations journalières des caractéristiques biologiques celles liées à une horloge interne et celles qui traduisent simplement une réponse aux variations de lumière. Si enfin, on considère un cycle lumineux apériodique, il devient possible de dégager différentes cinétiques d'adaptation : des adaptations très rapides aux changements du milieu, des réponses modulées par l'historique des conditions qu'ont rencontrées les cellules et l'éventualité de contrôles endogènes circadiens.

Cette expérience a permis d'observer trois caractéristiques biologiques importantes :

- Le découplage de la division cellulaire par rapport à l'alternance jour/nuit. Le contrôle de la division n'est pas une réponse de la variation journalière de l'intensité lumineuse,
- Les variations des descripteurs de biomasse dans un régime lumineux non cyclique montrent que photoadaptation n'est pas une réponse instantanée à la variation du flux de photons,
- le couplage complexe entre l'absorption du substrat et la lumière.

a) Différentes expressions de la croissance à partir d'un même échantillon.

L'évolution des différents descripteurs de la croissance (densité, diamètre, biovolume) rend compte de l'impact des divisions cellulaires et de la croissance somatique sur les

caractéristiques de la population : les cultures sont partiellement synchronisées. Alors que la croissance somatique ne s'effectue que lors des pics de très forts éclaircissements, une partie significative de la population se divise une fois par jour même en l'absence de lumière.

Se pose donc la question de l'éventualité du contrôle de la division par une horloge biologique. Chisholm et Costello (1980) ont pu montrer que le déclenchement de la division cellulaire chez *Thalassiosira weissflogii* et d'autres diatomées à croissance rapide est sous la dépendance de la lumière, la température et le degré de limitation par un ou plusieurs sels nutritifs. Concernant l'éventuel effet d'une horloge biologique, Chisholm & Brand (1981) n'ont pas observé une persistance claire de la division en faisant passer des diatomées d'un régime lumineux cyclique à un éclaircissement continu. Ces observations contrastent avec les nôtres, car la division se produit ici en l'absence de lumière. Elle peut donc être contrôlée par un facteur autre que la température ou la limitation par le nitrate.

Harris (1984) souligne que les nombreux descripteurs de la croissance du phytoplancton peuvent fournir des estimations différentes du taux de croissance. A partir des mêmes échantillonnages et des résultats fournis par un même appareil, nous disposons de différentes expressions de la croissance avec des interprétations biologiques complémentaires (par exemple, le diamètre permet d'apprécier à la fois la croissance somatique et la décroissance du diamètre moyen lié à la division et concomittante avec l'augmentation du nombre de cellules).

Cette expérience met en évidence le fait que la division ne dépend pas exclusivement de la présence de lumière. Ceci incite à étudier l'éventualité d'un contrôle endogène circadien de la division cellulaire même en absence de lumière. Ces observations ont pu être réalisées car le cycle lumineux n'était pas régulier au cours du temps.

b) L'évolution de la photoadaptation.

Un des intérêts de ce type d'expérience réside également dans l'étude de la cinétique de la photoadaptation aux variations du flux de photons. Celle-ci a par le passé fait l'objet de

nombreuses études notamment sur l'impact de fluctuations à différentes échelles de temps allant de la seconde à plusieurs jours, en relation avec différents phénomènes physiques (effets concentrateurs de la lumière par les ondulations des vagues, passages de nuages, brassage vertical, etc...) qui influent sur les apports lumineux reçus par les algues (Marra, 1978a ; Walsh & Legendre, 1982 ; Yoder & Bishop, 1985 ; Savidge, 1988 ; Cullen & Lewis, 1988 ; Wehde *et al.*, 2001). L'originalité de notre approche est de ne considérer que deux échelles de temps, le cycle journalier et la révolution des algues dans la colonne d'eau. Un autre aspect original de cette étude est que la photoadaptation est envisagée ici dans un contexte où les apports lumineux moyens sont peu importants à cause des phases prolongées d'obscurité "en profondeur".

Nos résultats concernant l'évolution des variables carbone, chlorophylle *a* sont qualitativement comparables à ce qui a été observé à l'équilibre (Chalup & Laws, 1990, Laws & Bannister, 1980). La chlorophylle diminue aux fortes intensités et présente les niveaux les plus élevés la nuit. La quantité de chlorophylle par cellule tend à augmenter durant les journées où les algues reçoivent de la lumière. Selon Post *et al.* (1984), le fait que ces concentrations augmentent durant la journée diffère d'une adaptation à l'intensité lumineuse car dans ce cas, on atteindrait plutôt une évolution inverse. Selon ces auteurs, il s'agirait ici d'un contrôle de la production de pigments au travers d'un rythme circadien endogène afin d'optimiser la photosynthèse. Cette hypothèse est ici discutable dans la mesure où les variations de chlorophylle par cellule sont liées à l'intensité du pic de lumière et que l'on n'observe pas d'augmentation de chlorophylle en absence de lumière. Ces mêmes auteurs ont pu montrer l'absence de corrélation entre la division cellulaire et les variations de chlorophylle. Nos résultats sont en accord avec ce constat dans la mesure où la chlorophylle par cellule ne présente pas de variations marquées lors des phases de division.

La concentration en carbone du fait de la photosynthèse présente des valeurs maximales la journée, proportionnelles à la quantité de lumière reçue durant la journée. L'absorption du nitrate et la chlorophylle évoluent de façon complexe et découplée temporellement par rapport au flux de photons ce qui peut expliquer qu'il n'y ait pas de proportionnalité apparente entre l'intensité lumineuse et l'accroissement du carbone particulaire. Savidge (1980) et d'autres auteurs ont pu mettre en avant que les paramètres des courbes de photosynthèses sont fortement influencés par l'irradiance intégrée sur les journées qui précèdent.

Les descripteurs de la biomasse évoluent de façon complexe vis-à-vis de la lumière. Nos observations et la littérature plaident en faveur d'un contrôle endogène de la synthèse de chlorophylle et d'une photosynthèse dépendante des apports lumineux intégrés sur plusieurs jours. La photoadaptation et la photosynthèse ne se limitent donc pas ici à des réponses immédiates par rapport à une intensité lumineuse instantanée.

Le modèle BioLOV se révèle ici capable de représenter de façon très satisfaisante la photoadaptation et la fixation du carbone dans des conditions où le nitrate n'est pas limitant pour la croissance à condition de tenir compte du couplage entre l'absorption et la lumière.

c) De nouvelles propriétés concernant l'absorption du nitrate.

Le résultat majeur mis en évidence par cette expérience est la forte dépendance de l'absorption du nitrate par rapport à la lumière et ses conséquences sur la croissance. Le fait de ne pas prendre en compte les effets de la lumière sur l'absorption engendre des biais importants pour la modélisation et nous a conduit à reformuler ce processus dans BioLOV. La représentation classique qui considère l'absorption comme dépendante d'un sel nutritif a été proposé par Dugdale en 1967 et a abouti à la formulation classique suivante que l'on trouve dans de nombreux modèles :

$$\rho(S) = \rho_m \frac{S}{S + k_s} \quad (\text{VI.8})$$

Ce type de formulation a rapidement été considéré comme à même de représenter la cinétique d'absorption du substrat dans la plupart des cas (Cloern, 1977 ; Rhee, 1973 ; Eppley & McCarthy, 1969) à partir d'observations acquises à l'état stable. L'expérience réalisée ici dans des conditions non stables montre clairement la simplification que constitue la formulation de Dugdale dans la mesure où l'absorption du substrat n'est pas continue entre le jour et la nuit, que la division cellulaire inhibe ponctuellement ce processus, et que la relation

vis-à-vis de l'intensité lumineuse est complexe.

De nombreux facteurs contrôlent l'absorption du substrat : le taux de croissance (Caperon & Meyer, 1972, Eppley & Renger, 1974), l'affinité pour d'autres substrats (voir la synthèse de Goldman & Glibert, 1983), la température et la lumière (Bates, 1976 ; Cloern, 1977). Concernant la lumière, Cloern (1977) suppose que la prise de nitrate est très probablement stimulée par la lumière mais qu'il n'y a pas de corrélation évidente entre le taux d'absorption et l'intensité lumineuse. Il souligne également le fait que l'absorption est ralentie à faible lumière ce qui suggère que l'énergie requise pour l'absorption et la réduction du nitrate est liée à la photosynthèse. Syrett (1981) suggère que l'absorption dépend de la lumière, de façon directe ou indirecte à travers la photosynthèse mais que la nature exacte des phénomènes biochimiques qui interviennent reste inconnue. Falkowski (1975a,b) explique la dépendance de l'absorption à la lumière par la présence sur la membrane cellulaire d'ATPases activées par le nitrate. L'ATP, générée par photophosphorylation, intervient dans le fonctionnement de perméases qui permettent l'absorption (Cochlan *et al.*, 1991b).

Pour les modélisateurs, l'absorption dépendante de la lumière est souvent représentée par une formulation de type Michaëlis-Menten et introduite par MacIsaac et Dugdale (1972) :

$$V = V_D + V' \max \left[\frac{I}{I + K_{LT}} \right] \quad (\text{VI.9})$$

où

V : absorption d'azote inorganique total par unité de chlorophylle.

V_D : absorption en phase nocturne.

V'max : absorption maximale par unité de chlorophylle sous lumière saturante

K_{LT} : coefficient de demi-saturation.

I : intensité lumineuse

Cette formulation est proche de celle que nous avons adoptée pour le modèle BioLOV, mais elle est paradoxalement peu utilisée dans les modèles de croissance alors que ces paramètres ont pu être estimés de façon satisfaisante pour différentes situations océaniques (par exemple Kanda *et al.*, 1989, Cochlan *et al.*, 1991b, Kudela *et al.*, 1997).

Les valeurs de K_{LT} estimées par ces auteurs sont généralement bien supérieures à celle de K_{ipm} utilisée pour le modèle BioLOV; ce qui suggère deux situations radicalement différentes. Dans le cas de BioLOV, le paramètre technique K_{ipm} est petit de façon à inhiber l'absorption lors des phases nocturnes et de la maximiser durant la journée, l'intensité lumineuse jouant essentiellement un rôle déclencheur de l'absorption. Les valeurs de K_{LT} permettent une dépendance marquée de l'absorption vis à vis de l'intensité lumineuse, ce qui est paradoxal par rapport à nos observations où l'absorption n'augmente pas forcément avec l'intensité dans le cas des intensités intermédiaires. En fait, la relation (VI.9) est vraisemblablement plus adaptée à des expériences où les cycles lumineux se répètent de jour en jour (voir par exemple Cochlan *et al.*, 1991a). Notre expérience a une dimension plus complexe avec la trajectoire de la cellule. Nos résultats montrent clairement la nécessité d'une exposition préalable des algues à la lumière pour permettre l'absorption dans des conditions limitées en énergie lumineuse. De même, la division cellulaire interagit de façon significative avec l'absorption. Ces faits suggèrent que la représentation de MacIsaac et Dugdale (1972) peut s'avérer très limitée dans le cas de cellules en déplacement dans la colonne d'eau.

En revanche, les différentes observations faites entre autres par Kanda *et al.* (1989), Cochlan *et al.* (1991b), Kudela *et al.* (1997) rejoignent les nôtres sur le fait que l'absorption en phase obscure est réduite. Ces auteurs soulignent que l'absorption à l'obscurité ne devient significative (par rapport à l'absorption diurne) que lorsque les cellules deviennent limitées par le substrat. Dans cette expérience, la non-limitation par le substrat engendre une forte synchronisation de la population. Lors de la division massive de la population, l'absorption est stoppée la nuit. En fait, en régime limitant, la population serait moins synchronisée ce qui permettrait alors une absorption nocturne moins atténuée par l'effet de la division. Différents auteurs ont pu montrer que des apports ponctuels de nitrate peuvent également modifier le rythme des divisions (Eppley *et al.*, 1971 ; Olson & Chisholm, 1983). Pascual & Caswell (1997) ont en revanche proposé un modèle de division cellulaire où la cellule n'absorbe le nitrate que lors des premières phases de son cycle cellulaire. En phase de mitose, l'absorption est arrêtée.

Un autre point lié à l'absorption du nitrate est l'excrétion parallèle de nitrite durant les phases diurnes. Ce phénomène a été attribué depuis longtemps à une réduction incomplète du nitrate absorbé (Vaccaro & Ryther, 1960; Wada & Hattori, 1971; Dore & Karl, 1996; Collos,

1998; Al-Qutob *et al.*, 2002), mais l'intensité de ce phénomène par rapport à l'absorption est hautement variable selon les espèces et les apports lumineux (Collos, 1998). L'excrétion de nitrite dans cette expérience est due au manque de lumière. En effet, la ferredoxine, qui joue le rôle de donneur d'électron pour la nitrite réductase est synthétisée uniquement durant la photosynthèse (Losada *et al.*, 1981). Les faibles apports lumineux placent les cellules dans des conditions où la ferredoxine est limitante pour l'activité de la nitrite réductase, les nitrites étant alors excrétés dans le milieu.

Grâce à une expérimentation sous régime lumineux variable, de nouvelles propriétés concernant l'absorption du nitrate ont pu être mises en évidence. L'ensemble des observations faites durant cette expérience met en évidence des propriétés complexes que des cultures à l'équilibre ne permettent pas de dégager. Nous allons tenter de vérifier dans le chapitre suivant l'éventualité de contrôles endogènes sur la division et la synthèse de la chlorophylle. Nous testerons également le comportement de BioLOV dans une situation où la culture est limitée à la fois par la lumière et le nitrate.

Chapitre VII

*Croissance phytoplanctonique carencée en
nitrate sous éclairement cyclique*

Chapitre VII

Croissance phytoplanctonique carencée en nitrate sous éclairage cyclique

I. INTRODUCTION.	123
II. DEROULEMENT DE L'EXPERIENCE.	123
III. EVOLUTION GENERALE DE LA POPULATION.....	124
III.1. VARIATIONS JOURNALIERES DE LA POPULATION	124
III.2. COMPORTEMENT DU SUBSTRAT ET DE L'AZOTE PARTICULAIRE.	125
III.3. IMPACT DES CYCLES LUMINEUX SUR LA CHLOROPHYLLE ET LE CARBONE PARTICULAIRES.	125
IV. SIMULATIONS DYNAMIQUES VS. OBSERVATIONS.	127
V. IDENTIFICATION DES ECARTS AUX DONNEES.....	128
V.1. LES PARAMETRES DE BioLOV SONT-ILS CORRECTS ?	129
V.2. ORIGINE DES BIAIS POUR LA CHLOROPHYLLE ET LE CARBONE.	129
V.3. VERS UNE MEILLEURE FORMULATION DE LA DYNAMIQUE DE LA CHLOROPHYLLE.	131
a) <i>Dégradation des pigments</i>	131
b) <i>Taux de photosynthèse $a(I)$</i>	131
c) <i>Terme de photoadaptation $k(I)$</i>	132
VI. SYNTHESE ET DISCUSSION.	133
VI.1. OSCILLATIONS JOURNALIERES ET HORLOGE BIOLOGIQUE.....	134
VI.2. DES PROPRIETES CELLULAIRES DIFFERENTES D'UN REGIME LUMINEUX A L'AUTRE.	135

I. Introduction.

Les chapitres précédents ont montré que le modèle BioLOV, identifié et validé à l'équilibre est capable de fournir des simulations satisfaisantes pour des conditions caractérisées par de longues périodes d'obscurité et une absence de limitation par le substrat, situation rencontrée dans une couche de mélange profonde. Ce chapitre s'intéresse au contraire à l'adaptation des cellules et au comportement du modèle BioLOV dans une situation où la lumière présente une photopériode et où le phytoplancton est limité par l'azote. L'expérience précédente ayant suggéré que la division pouvait être sous le contrôle d'une horloge biologique interne, nous allons passer dans l'expérience qui suit d'un régime lumineux cyclique à un éclairement continu afin d'examiner la rémanence possible d'une cyclicité biologique.

II. Déroulement de l'expérience.

Trois chémostats sont alimentés à un taux de dilution de $0,4 \text{ j}^{-1}$, avec un milieu dont la concentration en nitrate S_{in} est $70 \text{ } \mu\text{M}$. Un des chémostats (que nous appellerons « LL ») est entouré par un filtre neutre afin de réduire le flux de photon d'environ 4,5 fois par rapport aux deux autres chémostats (« HL ») qui sont des duplicats. L'expérimentation est réalisée suivant trois étapes :

- *Mise en place de la culture.* Les quatre premiers jours, la culture est en phase de batch sous lumière constante ($250 \text{ } \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) afin de permettre à la biomasse d'augmenter rapidement. Au cours du 5^{ième} jour, le cycle lumineux est activé. C'est un signal en cloche avec une photopériode de 12 heures. Les intensités maximales (au midi solaire) sont d'environ $850 \text{ } \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dans les deux chémostats HL et d'environ $180 \text{ } \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dans le chémostat LL. On laisse ensuite les cultures se stabiliser à un niveau de biomasse suffisant pour les mesures.

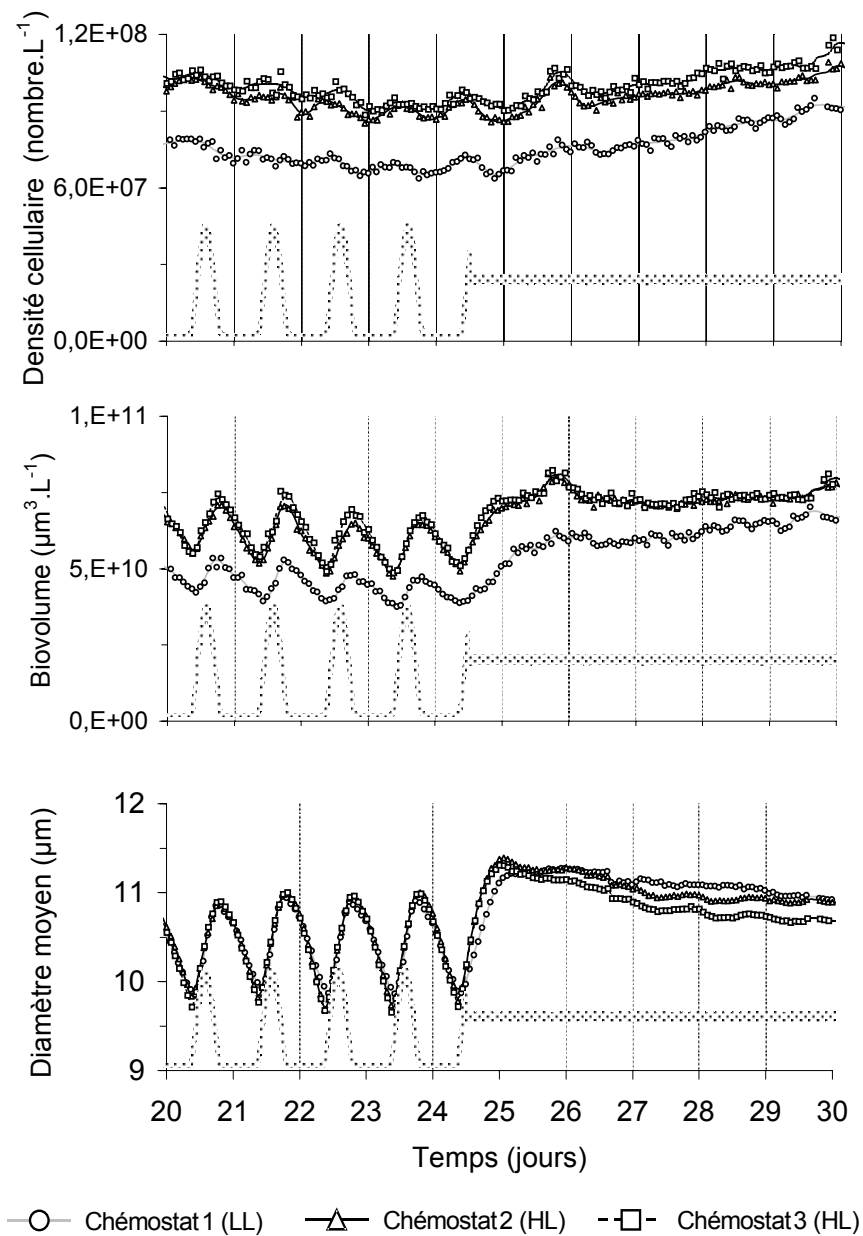


Figure VII-1 : Evolution des descripteurs de la population. Les cellules sont moins nombreuses dans le chémostat LL. En revanche, le diamètre évolue de la même façon dans les trois chémostats. Jusqu'au milieu de 24^{ième} jour, la lumière suit un cycle photopériodique de 12h puis devient constante. En phase cyclique, le volume des cellules augmente durant la journée (croissance somatique) et les cellules se divisent la nuit ce qui induit une augmentation de la densité cellulaire et une diminution parallèle du diamètre. Sous lumière continue, les différentes variables se stabilisent.

- Une *phase d'échantillonnage intensif sous lumière fluctuante* à partir du 20^{ième} jour avec des mesures de carbone, d'azote et de chlorophylle toutes les six heures.
- *Phase d'échantillonnage intensif à lumière constante.* Au milieu du 24^{ième} jour, l'intensité lumineuse devient constante et fixée à 100 et 400 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour LL et HL respectivement. Ces intensités correspondent à un doublement du flux de photons journalier par rapport au cycle périodique. L'échantillonnage intensif continue pendant cinq jours.

Dans ce chapitre, nous n'évoquerons que les observations réalisées lors des phases d'échantillonnage intensif soit les mesures comprises entre le 20 et 30^{ième} jour.

III. Evolution générale de la population.

III.1. Variations journalières de la population

Les taux de variation des descripteurs de la population (figure VII-2) présentent des amplitudes moins fortes que celles estimées lors de l'expérience en cycle convectif (tableau VII-1). Nous attribuons cette différence à la limitation de la croissance par le nitrate. Bien qu'une phase de division plus importante soit visible quotidiennement, on observe également que la valeur minimale du taux de division ne s'annule jamais, ce qui suggère que la synchronisation de la population n'est que partielle. Après le passage sous lumière constante, des augmentations périodiques du taux de division demeurent, avec une période entre chaque pic qui tend toutefois à s'allonger. L'amplitude des pics diminue progressivement. Parallèlement, nous n'observons que deux pics pour le taux de variation du biovolume et aucune pour le diamètre. **La rémanence de divisions observée après le passage sous lumière constante suggère un contrôle endogène et circadien de la division cellulaire de *Thalassiosira weissflogii*.**

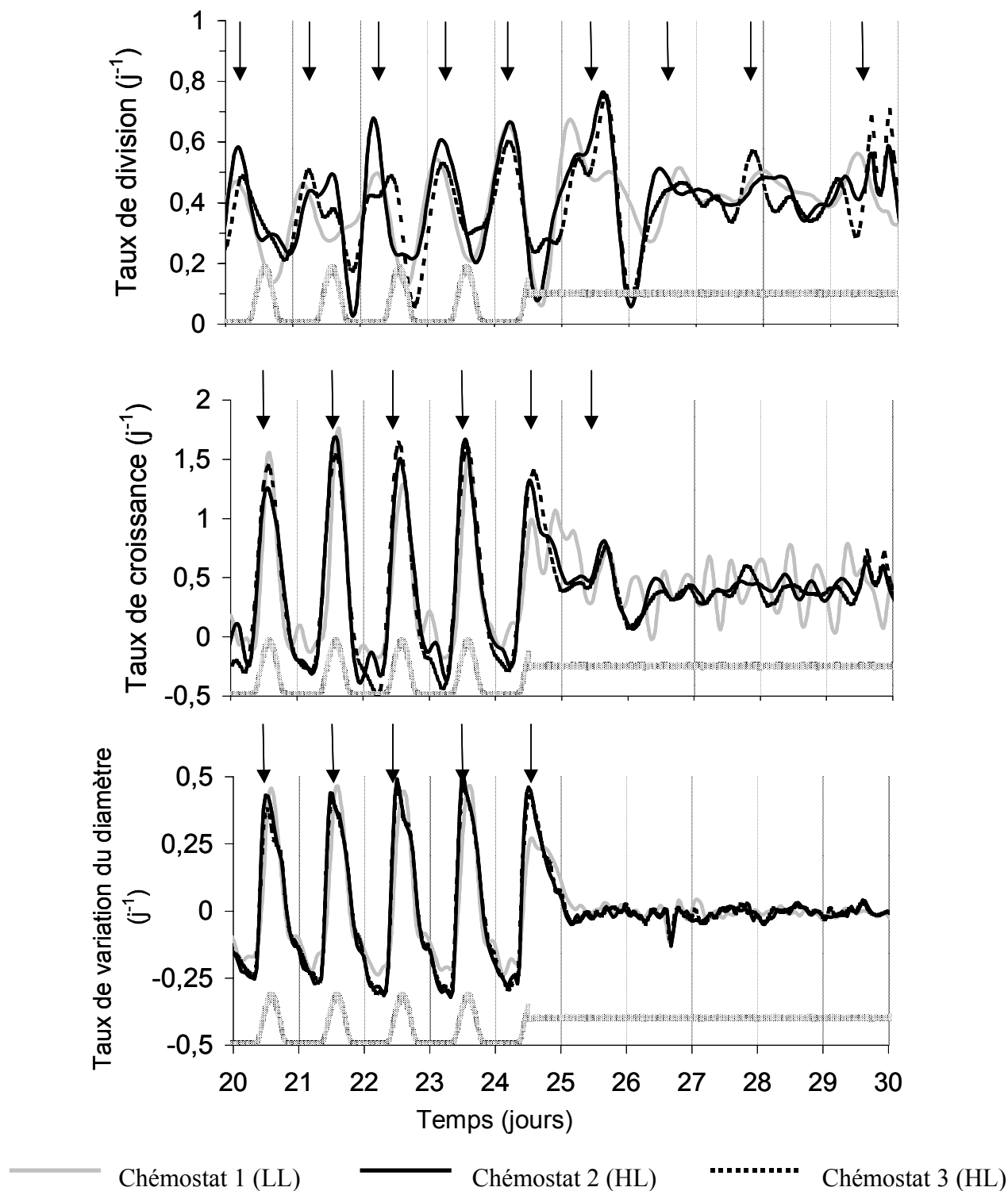


Figure VII-2 : Taux de variations des différents descripteurs de la population. Le taux de division a été déterminé en dérivant les données du nombre de cellule, le taux de croissance à partir du biovolume. Les flèches indiquent les pics significatifs d'une augmentation d'un des descripteurs.

Tableau VII-1 : Valeurs minimales et maximales des différents taux d'accroissement (taux de croissance, division, variation du diamètre) pour chaque descripteur de la population en régime cyclique. Les valeurs de cette expérience (« Exp. Cycle ») sont comparées à celles estimées dans le chapitre précédent (« Mvt. Convectif »).

Descripteurs	Taux d'accroissement (j^{-1})			
	Valeurs minimales		Valeurs maximale	
	Exp. Cycle	Mvt. convectif	Exp. Cycle	Mvt. convectif
Nombre	0,05	-0,6	0,75	1,5
Biovolume	-0,5	-0,3	1,6	1,9
Diamètre	-0,3	-0,5	0,5	0,7

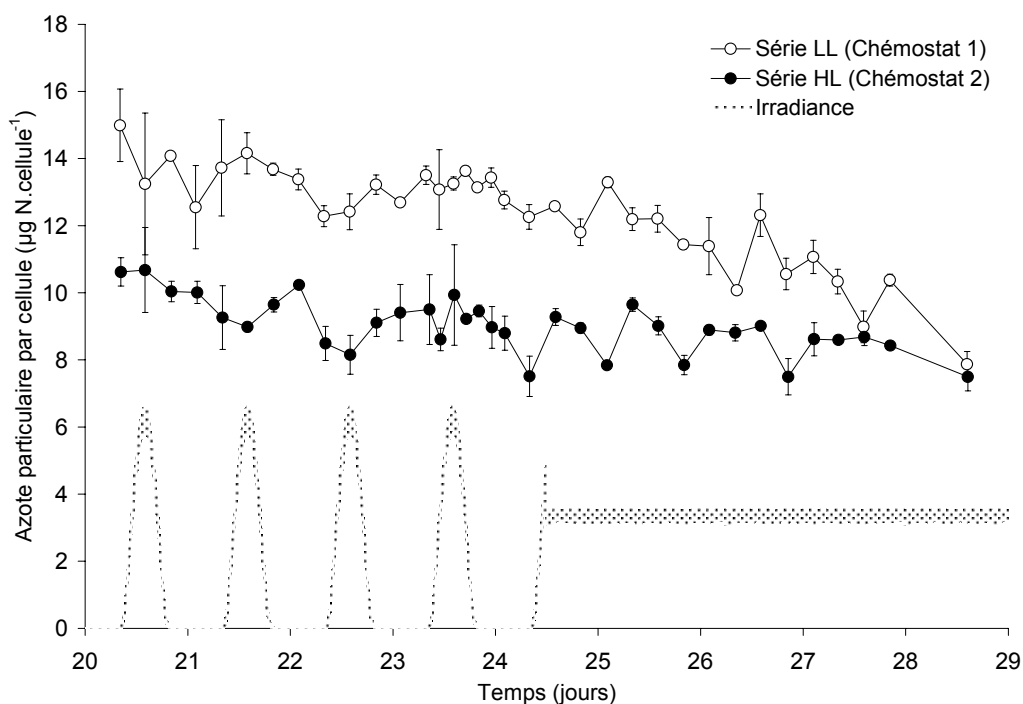


Figure VII-3: Evolution de l'azote particulaire total par cellule.

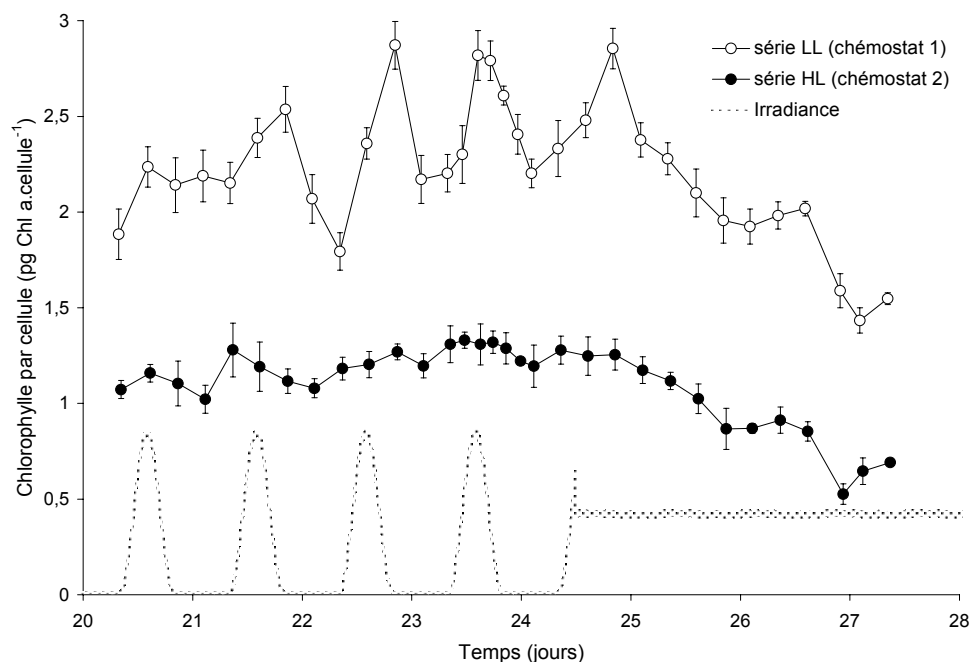


Figure VII-4: Evolution du contenu cellulaire en chlorophylle *a*. La chlorophylle est plus concentrée dans les cellules sous faibles éclaircements (LL) du fait de la photoadaptation. Le chémostat LL présente des oscillations journalières alors que HL reste relativement stable en régime lumineux périodique.

III.2. Comportement du substrat et de l'azote particulaire.

Dans cette expérience, et contrairement à la précédente, le nitrate résiduel ne s'accumule pas dans les chémostats. La biomasse phytoplanctonique, beaucoup plus importante que lors de l'expérience précédente consomme entièrement le substrat le jour et ce d'autant plus que les apports lumineux sont accrus par rapport à l'expérience précédente. La nuit, une des explications possible pour cette absence d'accumulation est que la population est moins synchronisée et par conséquent, l'inhibition de l'absorption au moment de la division cellulaire est beaucoup moins marquée. Ces observations, radicalement différentes de celles rapportées dans le chapitre précédent, reflètent une modification des propriétés cellulaires. L'azote particulaire est ici stable à concentration *Sin*. La concentration cellulaire en azote décroît (figure VII-3) après le passage sous lumière constante consécutivement à l'augmentation du nombre de cellules.

III.3. Impact des cycles lumineux sur la chlorophylle et le carbone particuliers.

L'évolution du contenu cellulaire en chlorophylle (figure VII-4) montre que la chlorophylle évolue de façon cyclique à faible éclairement avec un maximum en fin de journée, alors qu'il reste relativement constant pour les chémostats fortement éclairés. Le contenu cellulaire en carbone est quand à lui similaire pour HL et LL avec une phase de croissance durant la journée et une décroissance la nuit (figure VII-5)

Geider (1987) a observé l'existence d'une relation linéaire entre le rapport carbone/chlorophylle et l'intensité lumineuse dans des conditions de croissance à température constante et non limité par le substrat. Ici, le déphasage entre HL et LL ne permet pas d'obtenir ce type de relation (figure VII-6) car le nuage de points est bruité aux faibles intensités par les valeurs qui représentent la fois les cellules au début et en fin de phase d'éclairement.

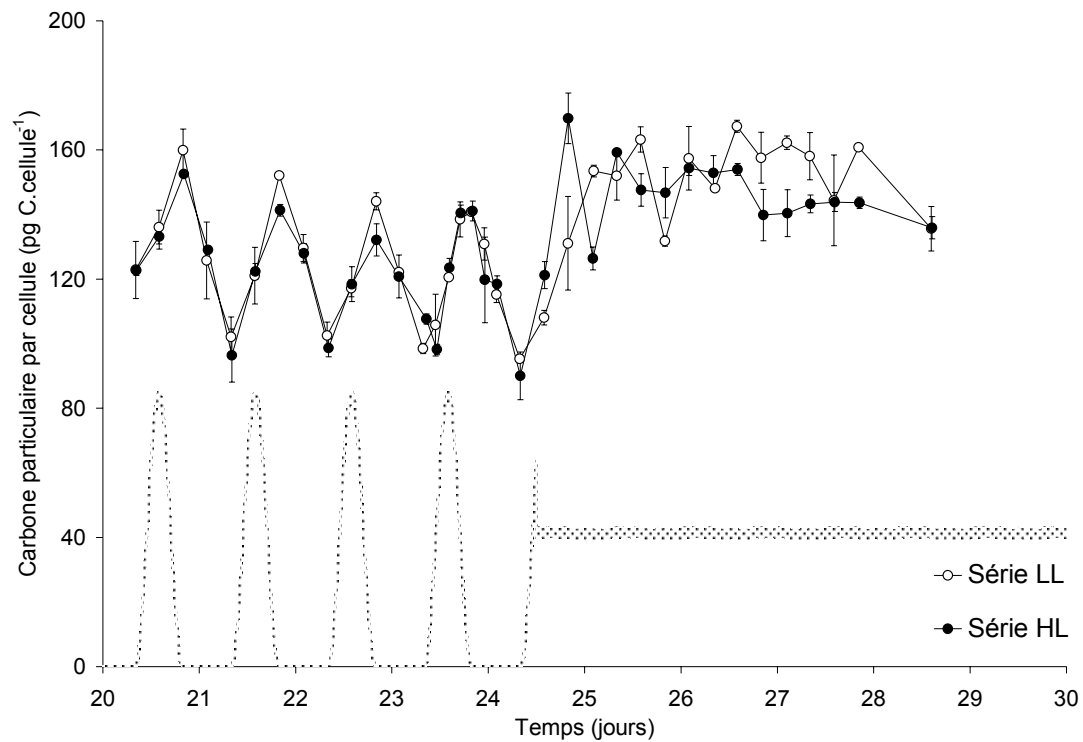


Figure VII-5: Evolution du contenu cellulaire en carbone. Les données sont très reproductibles d'un chimostat à l'autre quel que soit le régime lumineux. Les concentrations en carbone augmentent pendant la journée et décroissent la nuit (respiration et division). Après le passage sous lumière continue, les concentrations se stabilisent rapidement.

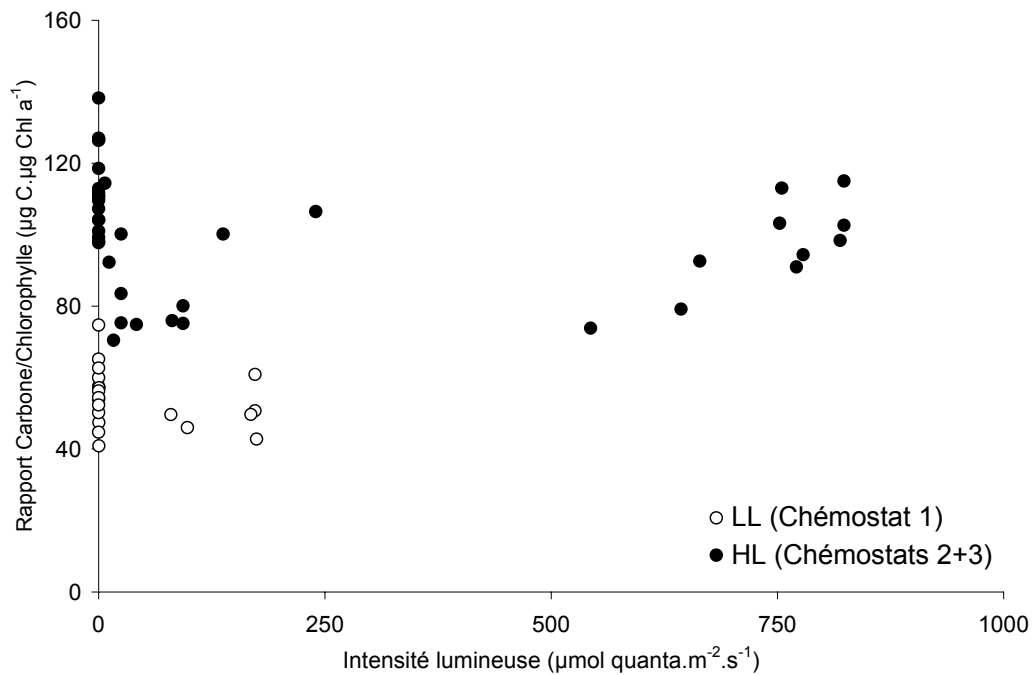


Figure VII-6: Le rapport carbone/chlorophylle *a* ne présente pas de relations avec le flux de photons instantané.

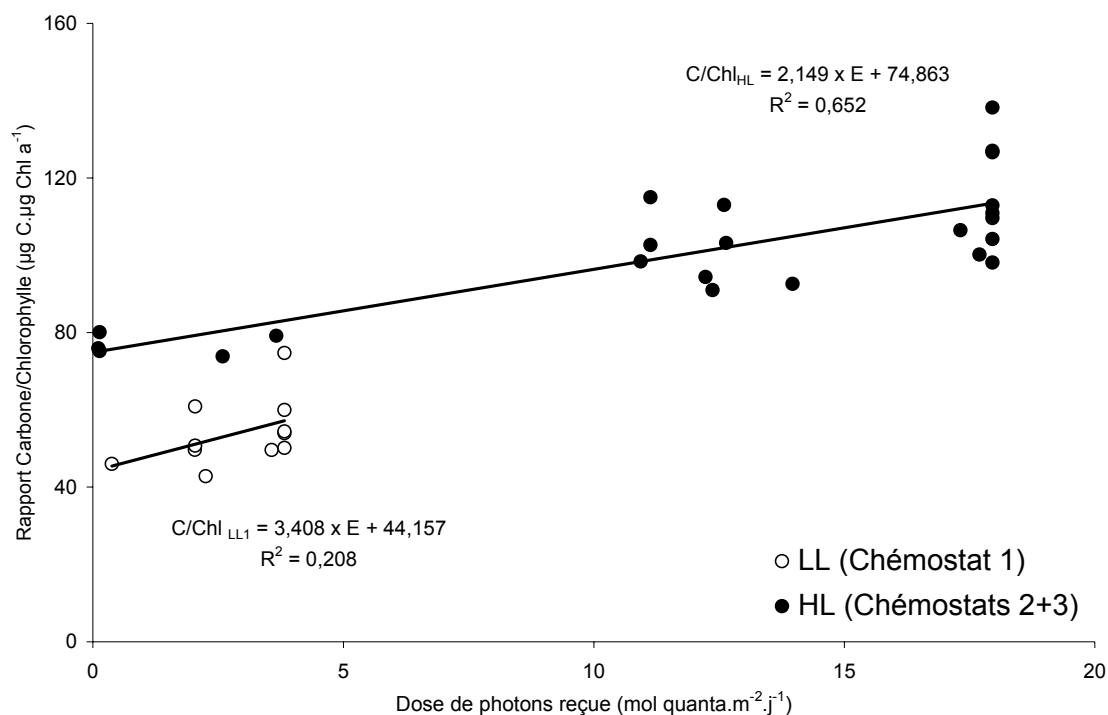


Figure VII-7: Relation linéaire entre le rapport carbone/chlorophylle a et la dose de photons reçue. Pour déterminer ces relations, seuls les points acquis lors des phases d'éclairement ont été retenus. Les points acquis en phase d'obscurité ne sont pas représentés.

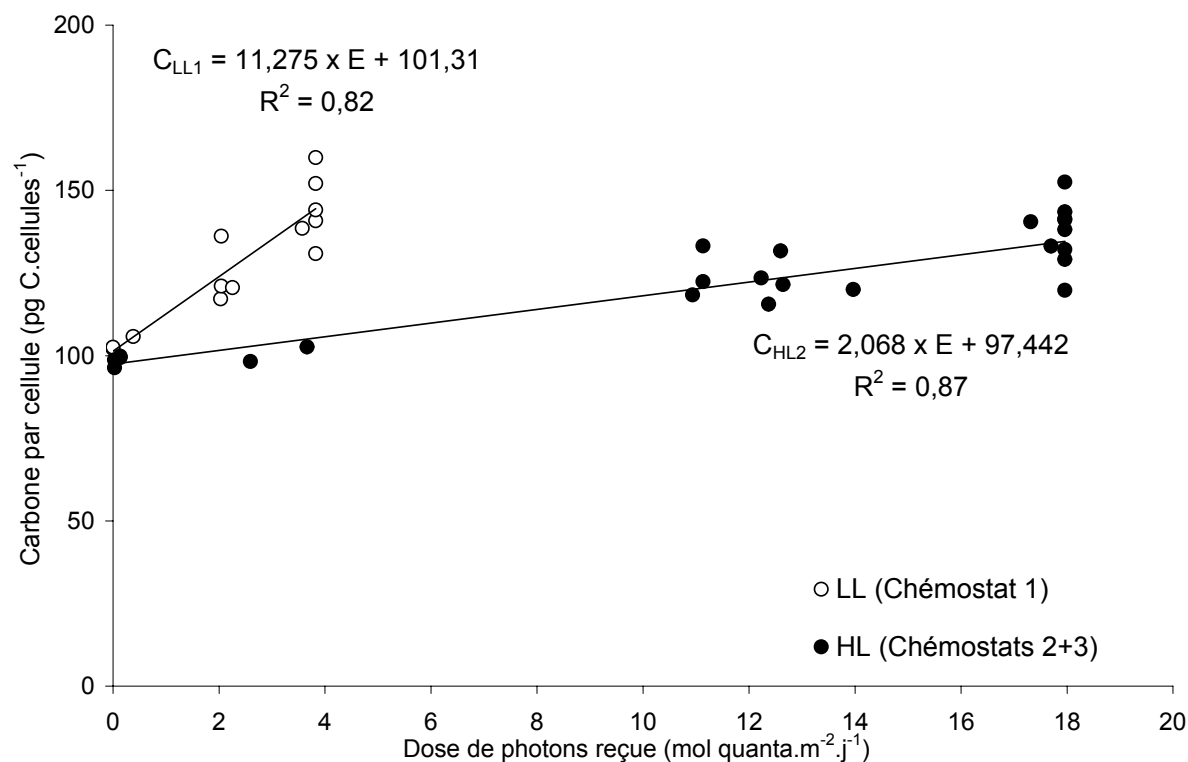


Figure VII-8: Relation linéaire entre le contenu cellulaire en carbone et la dose de photon reçue.

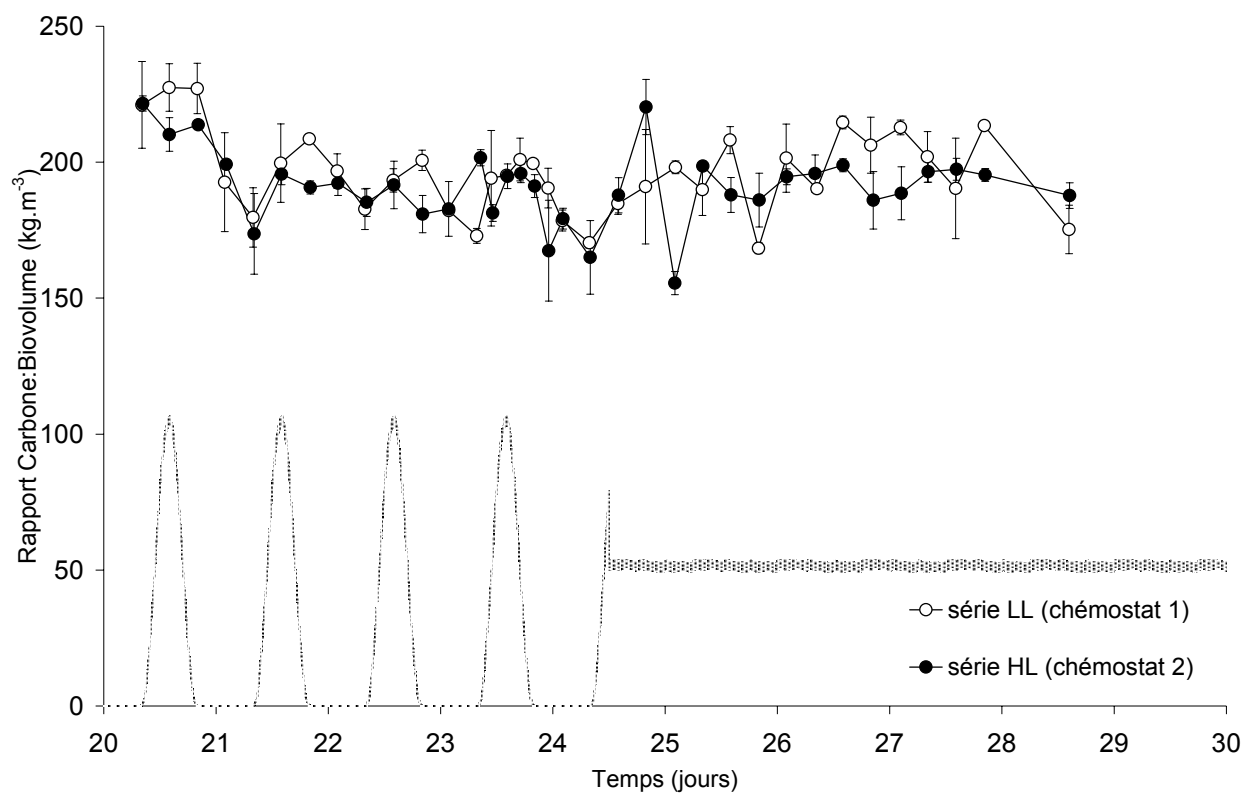


Figure VII-9: Evolution du rapport carbone sur biovolume. Il ne se dégage pas de différences significatives entre le régime cyclique et la période sous lumière continue.

Pour caractériser l'évolution des concentrations cellulaires en carbone et chlorophylle en fonction de la lumière reçue au cours de la journée, plutôt que d'utiliser l'intensité lumineuse instantanée, nous utilisons ici la notion de "dose de photons reçue". Nous considérons par ce terme l'intégrale du flux de photons reçu depuis le début de la phase d'éclairage et à un moment t de la journée. Si l'on considère le rapport carbone sur chlorophylle en fonction de la dose de photons reçue, nous obtenons deux relations linéaires de pentes comparables pour les conditions LL et HL, mais avec des ordonnées à l'origine différentes (figure VII-7). Ces ordonnées traduisent l'acclimatation respective des cellules aux conditions d'éclairage moyen de HL et LL à long terme. De même, la figure VII-8 montre que le contenu cellulaire en carbone évolue linéairement par rapport à la dose de photon reçue. Il est en théorie possible d'estimer en combinant ces deux relations linéaires, le contenu cellulaire en chlorophylle, mais la variation journalière non significative de cette quantité pour les séries HL et le bruit sur le rapport C:Chl pour LL n'ont pas permis d'avoir des résultats probants.

L'idée d'une photoadaptation où le contenu chlorophyllien diminue avec l'intensité lumineuse n'est pas valable à court terme, car ce contenu augmente avec l'intensité lumineuse. En revanche, les observations entre HL et LL restent cohérentes avec l'évolution de la photoadaptation si l'on ne considère les niveaux journaliers moyens de chlorophylle: les concentrations les plus fortes s'observent dans le chémostat placé à faible éclairage. Il en est de même lors du passage sous lumière constante, où les apports journaliers de lumière sont doublés, ce qui se traduit par une diminution de la quantité de chlorophylle présente dans la cellule

Le rapport carbone sur biovolume (figure VII-9) reste relativement constant durant l'expérience, avec néanmoins certaines variations très peu marquées en comparaison avec celles observées dans l'expérience précédente. Nous avons alors fait l'hypothèse que la cellule accumulait du carbone pour sa division et que la frustule n'était pas suffisamment élastique pour que le biovolume augmente proportionnellement à la fixation du carbone. Dans la présente expérience, le carbone et le biovolume évoluent proportionnellement, probablement parce que la limitation par l'azote ralentit la prise de carbone.

Le carbone et la chlorophylle présentent encore une oscillation après passage en lumière continue. Celle-ci semble davantage liée aux changements des conditions de lumière

qu'à l'influence d'un rythme endogène. En effet, elle n'intervient que dans la journée qui suit le changement de régime lumineux et repose à première vue sur le temps de latence qui s'écoule entre les variations de lumière et la photoadaptation. Lors du passage sous lumière constante après une ultime phase d'obscurité, la chlorophylle continue à augmenter puis décroît pour se stabiliser à l'équilibre.

IV. Simulations dynamiques vs. observations.

Des simulations sont réalisées en utilisant comme forçages de lumière et de dilution, ceux utilisés pour les cultures HL et LL. Nous considérons les deux formulations du modèle : BioLOV et BioLOVabs (où l'absorption dépend de la lumière).

La figure VII-10 montre que BioLOV simule des concentrations de substrat inférieures au seuil de détection du Technicon. BioLOVabs présente quant à lui des valeurs plus élevées à cause de l'arrêt de l'absorption pendant la nuit. De ce fait, l'azote particulaire total (figure VII-10) est sous-estimé par BioLOVabs et est correctement représenté par BioLOV.

Les concentrations en chlorophylle simulée (figure VII-11) oscillent en raison de l'éclairage périodique. Les deux modèles sous-estiment les concentrations observées avec un déphasage temporel du modèle pour la série HL: alors que les concentrations mesurées décroissent, BioLOV simule une augmentation de cette variable. La sous-estimation de chlorophylle est accrue pour BioLOVabs à cause de la mauvaise estimation de l'azote particulaire. Les modèles sous-estiment également les concentrations en carbone particulaire (figure VII-11) pour l'ensemble des simulations. Contrairement à la chlorophylle, nous n'observons pas de déphasage pour le carbone entre les simulations et les observations. Les quotas (figure VII-12) sont généralement surestimés hormis pour le rapport Chl :C qui est conforme aux observations de la culture HL. Les quotas satisfont néanmoins qualitativement les observations puisqu'ils décroissent avec l'intensité lumineuse.

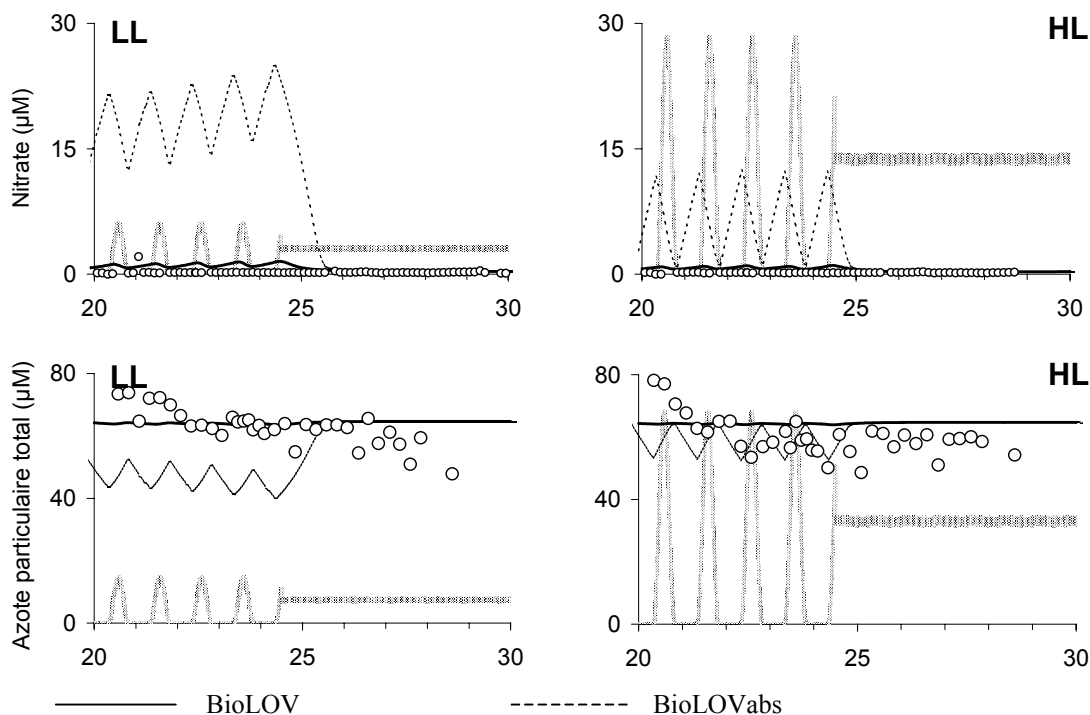


Figure VII-10: Dynamique du nitrate et de l'azote particulaire pour les modèles BioLOV et BioLOVabs. BioLOVabs simule une apparition de nitrate alors que dans BioLOV, le nitrate apporté est pratiquement entièrement consommé. La biomasse peu importante dans la culture LL induit l'accumulation du nitrate. BioLOVabs est incapable de représenter correctement l'azote particulaire total à cause de l'inhibition de l'absorption durant la nuit.

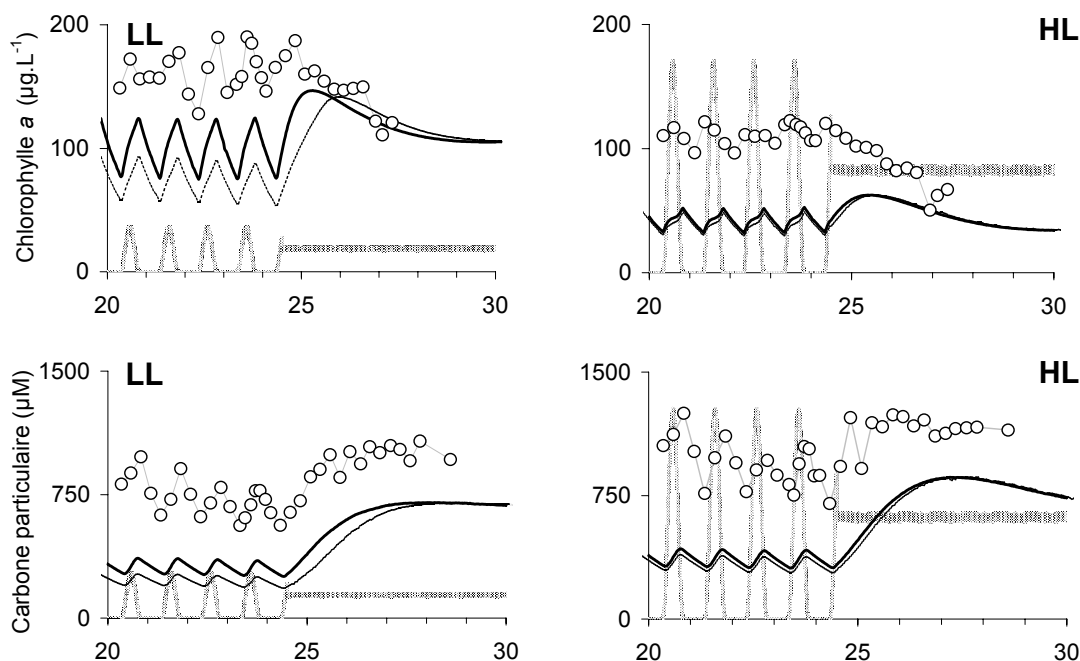


Figure VII-11: Dynamique de la chlorophylle et du carbone particulaire. Les deux modèles sous-estiment ces variables quel que soit le régime lumineux.

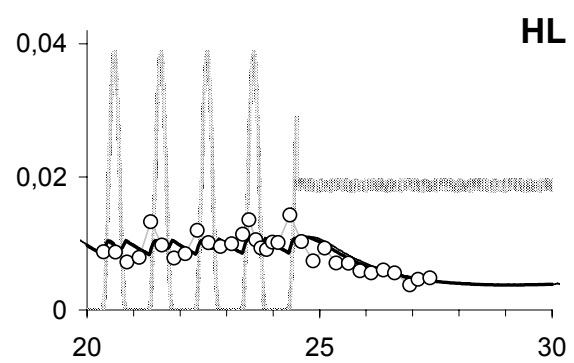
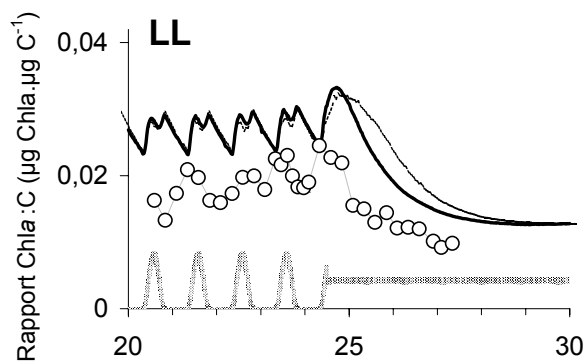
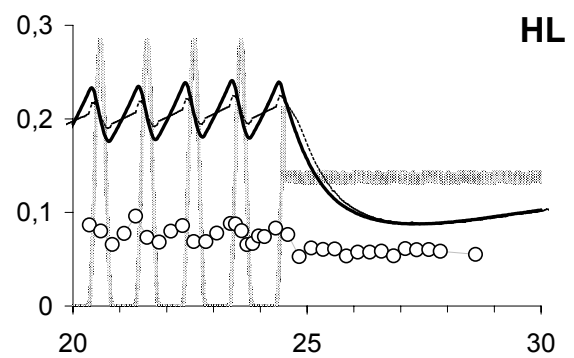
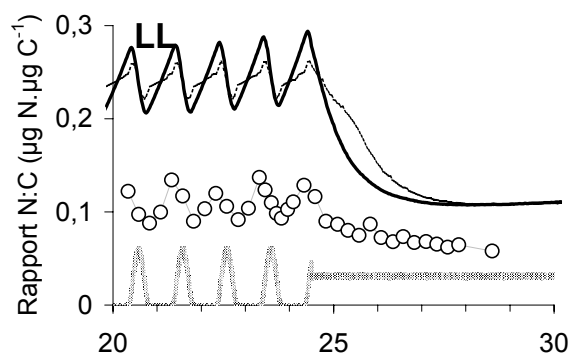


Figure VII-12: Evolution des quotas simulés. Les quotas sont généralement sous-estimés par les deux modèles.

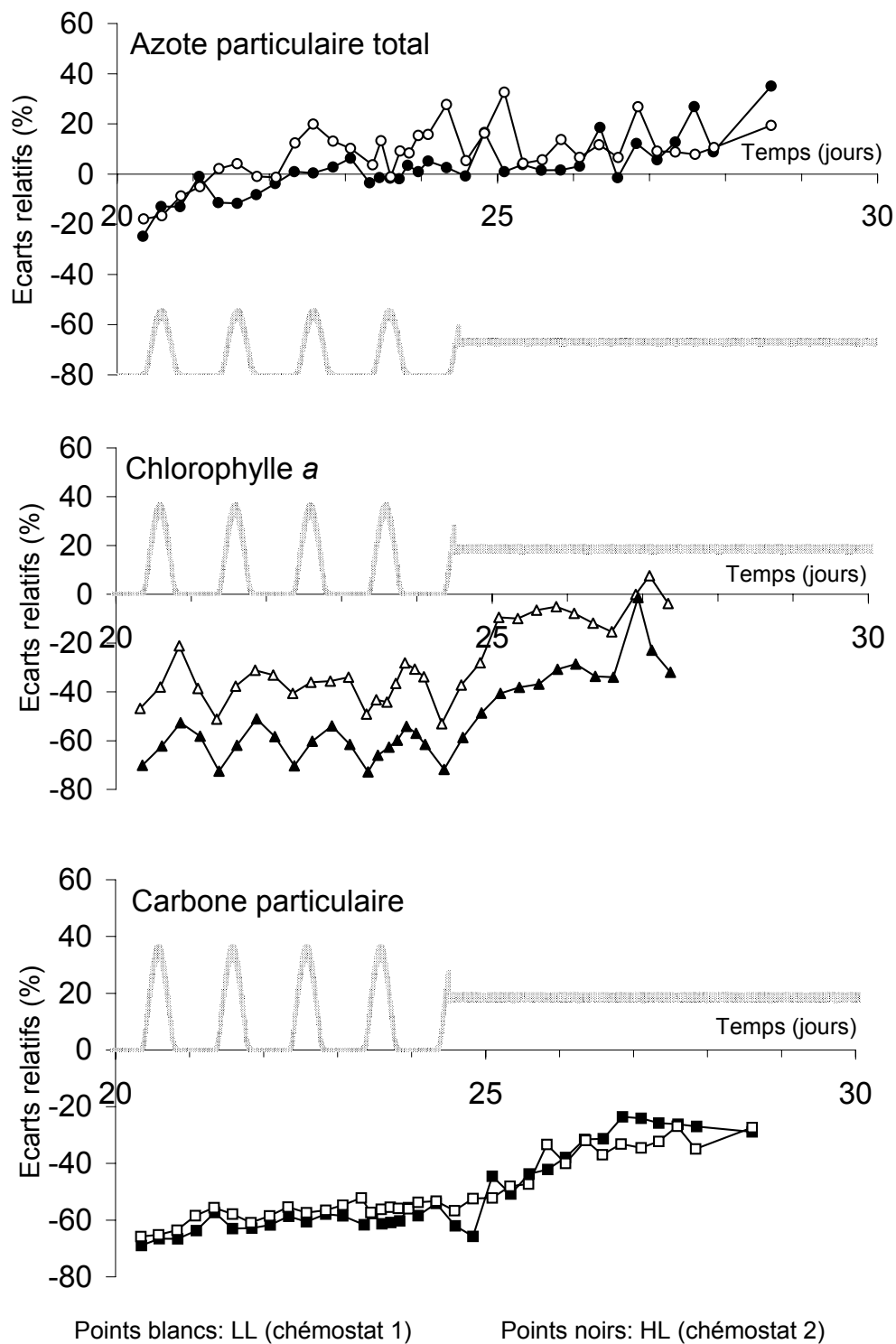


Figure VII-13: Ecarts entre les simulations et les observations. Une valeur négative indique que le modèle sous-estime la variable considérée par rapport aux données. Les écarts sont relativement stables au sein de chaque conditions d'éclairement (intensité et régime cyclique/continu).

BioLOV et BioLOVabs ne sont pas aptes à représenter les situations de cycles lumineux avec un le substrat limitant. Les observations et les simulations suggèrent que, contrairement à l'expérience simulant une situation hivernale, la capacité à absorber le nitrate est conservée durant la nuit. La formulation initiale de BioLOV apparaît donc comme la plus adaptée bien qu'insuffisante pour représenter les observations. Nous allons tenter d'identifier les facteurs responsables de cette mauvaise représentation.

V. Identification des écarts aux données.

Afin d'améliorer le modèle, nous souhaitons identifier les facteurs responsables de son inadéquation avec les observations. Dans un système dynamique, composé de variables représentant des gammes de variations différentes, interdépendantes entre elles, et auquel on impose des forçages variables, il n'est pas aisé d'étudier l'écart aux données, elles-mêmes bruitées et résultantes des forçages réels du système. Il est donc nécessaire de simplifier le cadre de l'étude. Pour cela, nous considérons les écarts relatifs entre simulations et observations. L'écart E_{v_i} est exprimé en pourcentage selon la relation suivante :

$$E_{v_i} = \frac{(V_{sim_i} - V_{obs_i})}{V_{obs_i}} \cdot 100 \quad (\text{VII.1})$$

avec

V_{sim_i} : Valeur simulée par une variable du modèle à l'instant i .

V_{obs_i} : Valeur observée du descripteur équivalent à l'instant i .

Le coefficient de corrélation des régressions linéaires entre les mesures et les sorties équivalentes du modèle constitue un indicateur de la qualité globale de l'ajustement du modèle aux données (Mayer et Butler, 1993). Les écarts modèles-simulations pour les différentes variables (figure VII-13) diffèrent de façon marquée non seulement entre les expériences HL et LL mais également entre la phase sous régime cyclique et celle sous

Tableau VII-2: Ecart relatifs moyens entre simulations et observations pour les différents types d'éclairements.

Descripteurs	Modèles	Eclairement			
		Faible (LL)		Fort (HL)	
		Cyclique	Continu	Cyclique	Continu
Azote particulaire total	BioLOV	-3,6 ± 7,8	9,7 ± 10,8	5,2 ± 11,7	12,4 ± 8,3
	BioLOVabs	-30,5 ± 6,9	3,6 ± 17,2	-4,5 ± 11,7	11,6 ± 9,0
Chlorophylle a	BioLOV	-38,1 ± 8,0	-10,6 ± 12,0	-61,9 ± 6,8	-33,8 ± 13,9
	BioLOVabs	-55,0 ± 6,0	-15,0 ± 22,5	-64,8 ± 6,8	-33,6 ± 16,4
Carbone	BioLOV	-57,5 ± 3,8	-39,2 ± 9,6	-60,8 ± 3,8	-37,7 ± 13,6
	BioLOVabs	-69,0 ± 2,7	-47,3 ± 14,5	-64,3 ± 3,4	-39,5 ± 15,2
C:Chl	BioLOV	-29,6 ± 13,2	-34,3 ± 6,6	6,5 ± 24,3	-9,0 ± 12,0
	BioLOVabs	-29,1 ± 13,2	-41,5 ± 8,5	5,9 ± 25,9	-13,4 ± 11,5
C:N	BioLOV	-55,9 ± 2,6	-44,5 ± 7,3	-62,6 ± 1,9	-44,4 ± 12,4
	BioLOVabs	-55,1 ± 4,9	-49,9 ± 7,8	-62,3 ± 3,6	-45,8 ± 13,3

Tableau VII-3: Coefficients de corrélation entre les observations et les simulations pour les différents types d'éclairement. Les résultats tendent à montrer que BioLOVabs s'ajuste mal aux données hormis pour le carbone.

Descripteurs	Modèles	Eclairement			
		Faible (LL)		Fort (HL)	
		Cyclique	Continu	Cyclique	Continu
Azote particulaire total	BioLOV	0,05	0,01	0,06	0,11
	BioLOVabs	0,01	0,00	0,01	0,06
Chlorophylle a	BioLOV	0,42	0,54	0,05	0,22
	BioLOVabs	0,32	0,23	0,11	0,01
Carbone	BioLOV	0,65	0,68	0,58	0,03
	BioLOVabs	0,67	0,60	0,61	0,03
C:Chl	BioLOV	0,01	0,88	0,09	0,80
	BioLOVabs	0,06	0,85	0,19	0,80
C:N	BioLOV	0,88	0,75	0,80	0,01
	BioLOVabs	0,62	0,83	0,39	0,01

lumière constante. La chlorophylle présente également des oscillations à l'échelle de la journée ce qui suggère qu'un des processus simulés évolue de façon inadéquate par rapport aux observations. Néanmoins, afin de simplifier l'étude, nous considérons pour chaque situation d'éclairage et chaque variable, un écart moyen.

V.1. Les paramètres de BioLOV sont-ils corrects ?

Le tableau VII-2 montre que les simulations sont plus proches des observations pour BioLOV que BioLOVabs. On voit également que les écarts entre observations et simulations sont inférieures sous régime constant à ceux calculés pour le régime périodique, et ceci pour toutes les variables. **Cela signifie que les paramètres de BioLOV ne permettent pas de représenter correctement le système dans des conditions de lumière cyclique et de croissance limitée par le nitrate.** Pour améliorer les simulations, il est donc nécessaire de disposer soit d'un autre jeu de paramètre spécifique pour le régime lumineux cyclique, soit de reformuler le modèle.

Le tableau VII-3 montre également que BioLOVabs s'ajuste moins bien aux observations. Dans la suite de ce manuscrit, les simulations porteront uniquement sur BioLOV car la formulation de BioLOVabs est inadéquate pour de cette expérience. Certaines valeurs du tableau VII-3 sont particulièrement faibles en particulier en régime continu. Cela est dû au fait que les variables des modèles tendent vers l'équilibre donc vers des valeurs constantes, alors que les observations varient autour d'une valeur (bruit expérimental, etc...) ce qui n'a donc rien à voir avec les performances du modèle.

V.2. Origine des biais pour la chlorophylle et le carbone.

Nous considérons que les biais observés sont la conséquence d'un changement des propriétés du système en rapport avec les variations journalières du flux de photons, que le

Tableau VII-4: Ecarts relatifs entre observations et simulations lorsque $\beta = \lambda$. Les sorties sont plus proches des données dans certains cas pour la chlorophylle et le carbone mais les écarts restent encore importants dans la plupart des cas.

Descripteurs	Modèles	Eclaircement			
		Faible (LL)		Fort (HL)	
		Cyclique	Continu	Cyclique	Continu
Azote particulaire total	BioLOV $\beta=\lambda$	5,9 $\pm$ 6,1	10,0 $\pm$ 10,5	10,3 $\pm$ 7,3	12,4 $\pm$ 8,3
		5,8 $\pm$ 5,9	10,0 $\pm$ 10,5	10,4 $\pm$ 7,3	12,4 $\pm$ 8,3
Chlorophylle a	BioLOV $\beta=\lambda$	27,5 $\pm$ 28,2	11,9 $\pm$ 10,6	61,9 $\pm$ 6,8	33,8 $\pm$ 13,9
		22,0 $\pm$ 20,0	11,9 $\pm$ 10,6	48,7 $\pm$ 15,7	33,8 $\pm$ 13,9
Carbone	BioLOV $\beta=\lambda$	57,5 $\pm$ 3,8	39,2 $\pm$ 9,6	60,8 $\pm$ 3,8	37,7 $\pm$ 13,6
		50,0 $\pm$ 6,5	39,2 $\pm$ 9,6	48,4 $\pm$ 11,4	37,7 $\pm$ 13,6
C:Chl	BioLOV $\beta=\lambda$	19,4 $\pm$ 26,5	34,3 $\pm$ 6,6	17,8 $\pm$ 17,4	11,8 $\pm$ 8,9
		20,9 $\pm$ 26,0	34,3 $\pm$ 6,6	16,3 $\pm$ 14,9	11,8 $\pm$ 8,9
C:N	BioLOV $\beta=\lambda$	55,9 $\pm$ 2,6	44,5 $\pm$ 7,3	62,6 $\pm$ 1,9	44,4 $\pm$ 12,4
		47,9 $\pm$ 8,6	44,5 $\pm$ 7,3	50,2 $\pm$ 13,4	44,4 $\pm$ 12,4

modèle ne prend pas en compte. Les biais observés peuvent être liés de façon non exclusive à un ou plusieurs paramètres dont la valeur est incorrecte, un ou plusieurs processus mal représentés structurellement, mais également à l'interdépendance des variables. En analysant le tableau VII-2, nous allons essayer de discriminer les différentes sources des biais:

- Les écarts simulations-observations pour la chlorophylle sont accrus lorsque les intensités lumineuses sont fortes.
- Les écarts pour le carbone dépendent essentiellement du type de régime lumineux (cyclique/constant) pour les deux situations. Les écarts observés pour un régime donné sont les mêmes, que ce soit en situation HL ou LL. Les écarts pour le carbone sont donc davantage liés à la nature du signal lumineux qu'à son intensité.
- Aux fortes intensités lumineuses, les écarts observés pour le carbone et pour la chlorophylle sont identiques entre eux, que la lumière soit constante ou cyclique.

La qualité des simulations dépend donc à la fois de l'intensité lumineuse mais également de la nature du signal lumineux. Ces deux caractéristiques, bien que liées, agissent différemment sur chaque variable du modèle. Cependant, la similitude des écarts observés pour la chlorophylle et le carbone suggère que **la chlorophylle est mal représentée. La différence entre le taux de synthèse des pigments et taux de dégradation n'est probablement pas assez importante pour produire suffisamment de chlorophylle. Ce phénomène est accru en phase cyclique, car la synthèse de pigments est interrompue la nuit, alors que sa dégradation se maintient, ce qui contribue à en appauvrir le pool.** Les simulations réalisées sous conditions LL produisent des écarts plus faibles car la synthèse de chlorophylle est plus importante, ce qui stimule également la fixation du carbone. Les processus qui méritent une attention particulière semblent donc être **la dégradation des pigments et la synthèse de chlorophylle**. Ces processus ne sont probablement pas représentés de façon adéquate, à cause soit d'une formulation mathématique/hypothèse erronée, soit de leur paramétrisation.

V.3. Vers une meilleure formulation de la dynamique de la chlorophylle.

La chlorophylle joue un rôle central dans ce modèle puisqu'elle est produite à partir de l'azote particulaire non chlorophyllien, et qu'elle conditionne la fixation du carbone. Sa concentration résulte de la différence entre synthèse et dégradation. Afin de déterminer le ou les processus responsables de la mauvaise adéquation du modèle aux données, nous allons procéder à un ajustement progressif du modèle en modifiant les paramètres associés à la synthèse et à la dégradation des pigments, et ce, pour différentes situations d'éclairement. Plus précisément, nous appliquons la démarche suivante:

a) Dégradation des pigments

Pour augmenter la concentration en chlorophylle, nous diminuons la dégradation des pigments à son taux minimum. Ce taux doit rester supérieur au taux de respiration (voir chapitre IV) pour que la chlorophylle évolue de façon croissante avec la dilution. Nous considérerons donc les écarts modèle-observations en valeurs absolues lorsque $\beta = \lambda$. Cette réduction permet d'améliorer les sorties du modèle, mais les biais demeurent importants (tableau VII-4, figures VII-17 et VII-18). Ce taux a un effet positif significatif uniquement en phase d'éclairement cyclique, et reste sans effet notable pour les phases d'éclairement continu. Ce n'est donc pas en modifiant ce taux que l'on peut diminuer les écarts aux données.

b) Taux de photosynthèse $a(I)$

La synthèse de la chlorophylle est un processus complexe, représenté dans BioLOV en fonction de la lumière, de la concentration en azote particulaire non chlorophyllien, et du taux de croissance brut. Nous étudierons dans un premier temps la relation entre la synthèse des pigments et le taux de croissance. Il correspond au produit du **taux de photosynthèse $a(I)$** et du rapport chlorophylle sur carbone. Une hypothèse importante est que le rendement quantique et l'absorption spécifique de la chlorophylle sont constants, ce qui se traduit par des

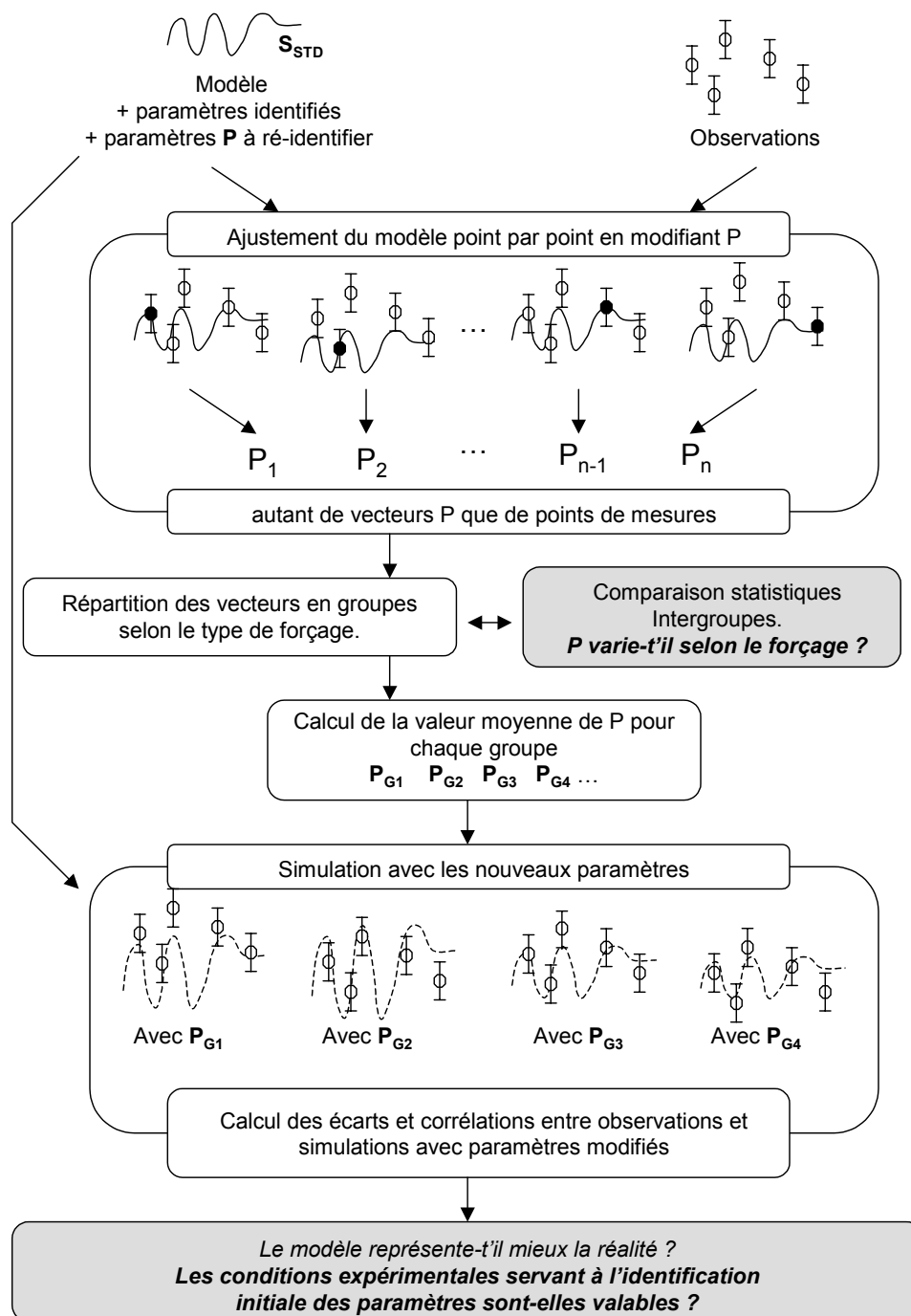


Figure VII-14: Schéma synoptique de la méthode utilisée pour déterminer quelles devraient être les valeurs de certains paramètres en fonction des conditions d'éclairage. Plutôt que de réaliser un ajustement global par type d'éclairage, le modèle est ajusté point par point aux données. Ces ajustements locaux permettent de déterminer s'il est plus judicieux d'identifier un modèle dans certaines conditions que dans d'autres. Ce type d'approche permet également d'apprécier l'adéquation du modèles aux données de certains processus: si les paramètres tendent à rester constants pour différents types d'éclairage, cela signifie que la formulation du processus considéré est très adaptée aux données. Dans le cas contraire, les variations des paramètres estimés peuvent fournir des indications sur les modifications à apporter aux processus modélisés.

paramètres α et k_i indépendants des conditions lumineuses (fort ou faible régime, apports continus ou cycliques). Nous allons apprécier l'effet de cette simplification en estimant par minimisation pour chaque mesure les paramètres α et k_i qui permettraient d'ajuster au mieux le modèle au point considéré (figure VII-14). Nous faisons l'hypothèse préalable que les autres paramètres du modèle sont optimaux. Les paramètres réidentifiés seront ensuite utilisés pour des simulations qui nous permettront d'apprécier l'impact de ce changement de paramètres sur les écarts modèle-observations.

Cette méthode permet d'obtenir deux séries temporelles (HL et LL) pour chaque paramètre (figure VII-15). Les tests statistiques (tableau VII-5) suggèrent que le processus de photosynthèse s'ajuste mieux aux données puisque les conditions HL et LL donnent les mêmes jeux de paramètres ("PhCyc"), alors qu'en régime continu il y a un jeu de paramètres par situation d'éclairements ("PhEqLL" et "PhEqHL" pour LL et HL). La figure VII-15 montre également qu'il y a une phase transitoire lors du passage sous régime lumineux constant, les paramètres ne convergeant vers les valeurs du régime constant que 12 à 24 heures après le changement de régime. La série LL se stabilise ensuite rapidement au nouveau régime alors que la série HL ne se stabilise que deux jours après. Ces changements nous ont amenés à exclure ces phases transitoires des différents tests statistiques. Les écarts calculés à partir des nouvelles simulations (figures VII-17 et VII-18) montrent que la ré-identification de α et k_i aboutit pour la plupart des situations à une diminution sensible des écarts pour la chlorophylle et naturellement pour le carbone. Les trois jeux de paramètres ont le même impact sur la chlorophylle. En ce qui concerne le carbone, les meilleurs résultats sont naturellement obtenus avec les paramètres identifiés en régime cyclique (PhCyc), et inversement en régime constant, mais les écarts restent cependant assez élevés sous éclairage constant même avec PhEqLL et PhEqHL. **Le modèle est donc plus apte à représenter la photosynthèse en régime cyclique qu'en régime continu.** Le calcul des coefficients de corrélation n'apporte pas d'informations supplémentaires, ceux-ci restant très proches de ceux initialement calculés pour BioLOV.

c) Terme de photoadaptation $k(I)$

Selon la même approche que pour le taux de photosynthèse, nous étudions si les paramètres liés au **terme de photoadaptation**, k_l et k_c présentent des différences selon les

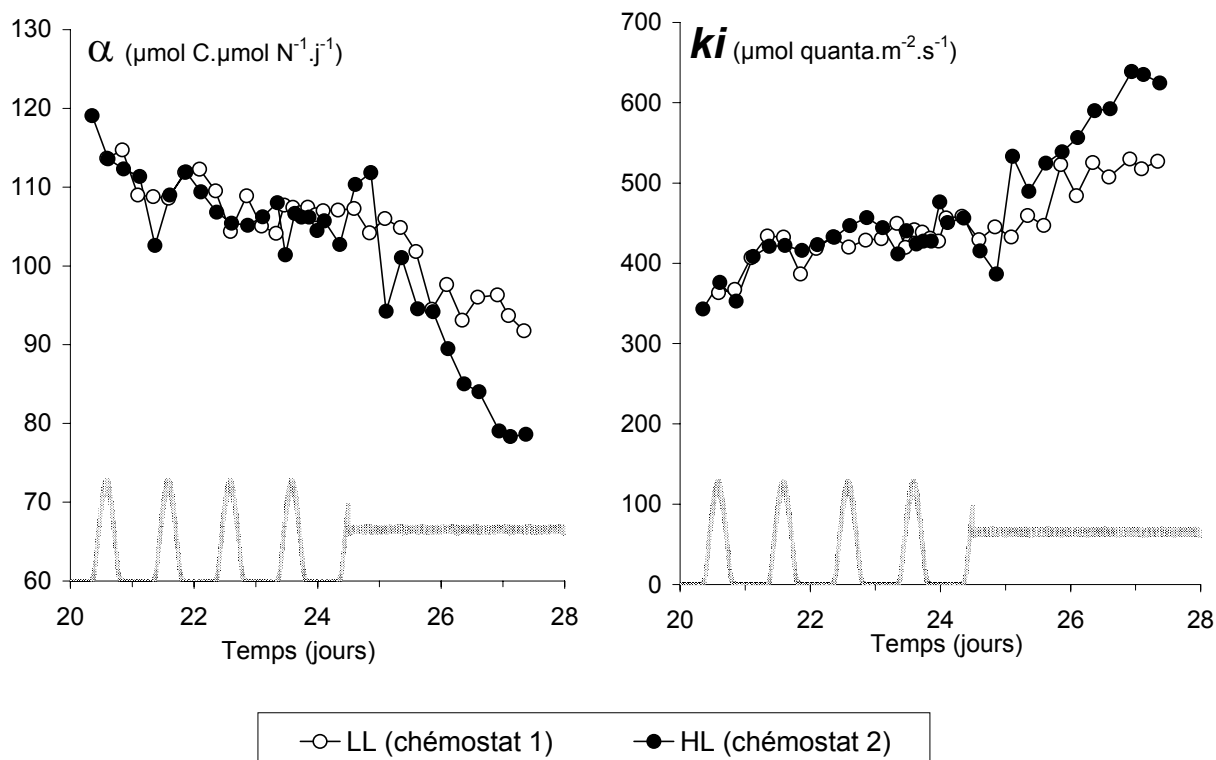


Figure VII-15: Evolution des valeurs optimales de α et ki . Il n'y a pas de différences marquées lors du régime cyclique entre les chémostats LL et HL mais celles-ci s'accroissent après le passage sous lumière continue.

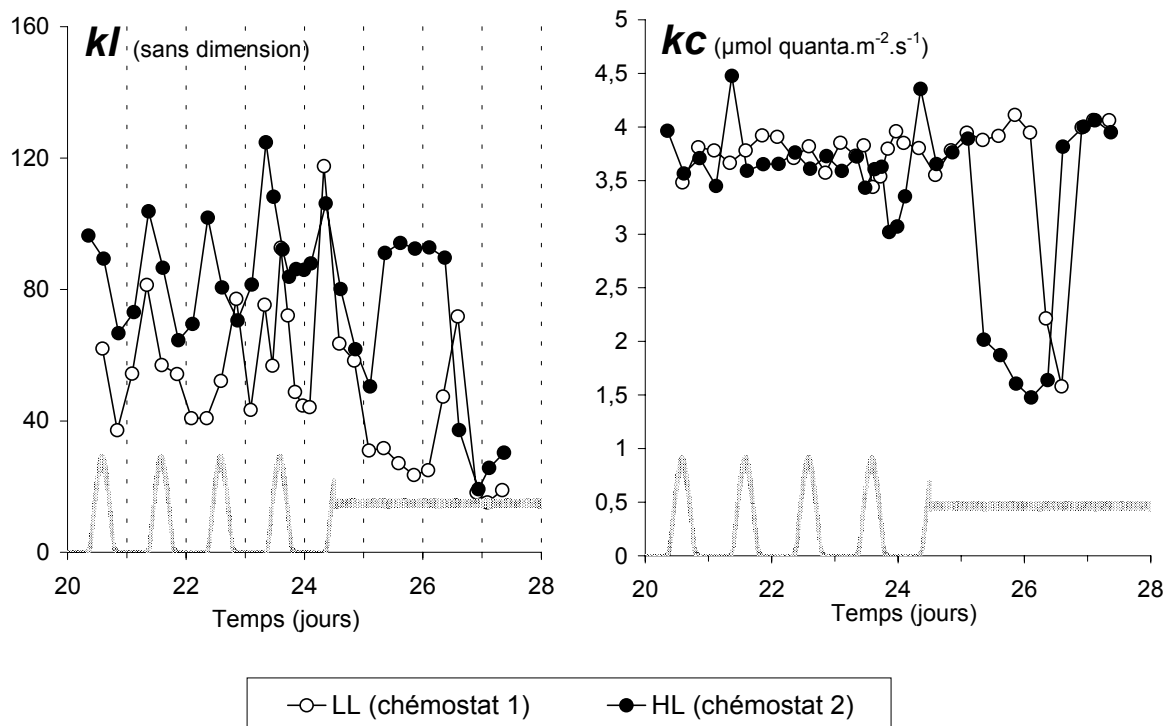
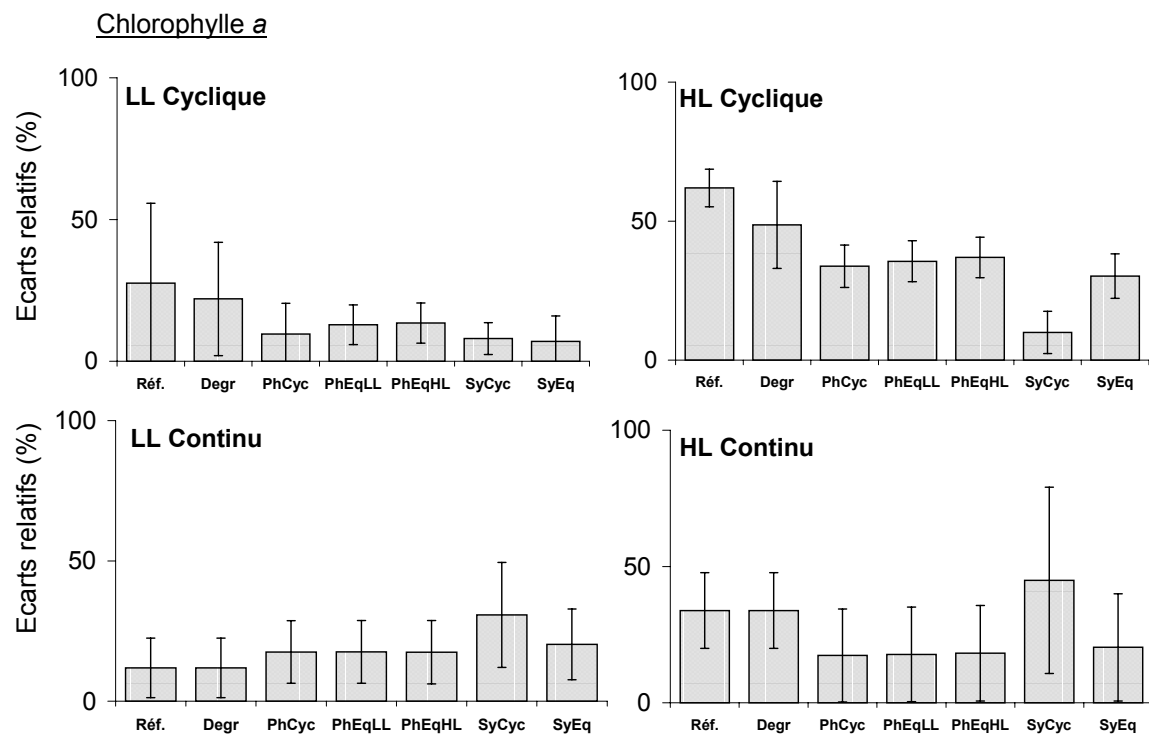


Figure VII-16: Evolution des valeurs optimales de kl et kc . Les différences sont très marquées entre HL et LL pour le paramètre kl alors que pour kc , les paramètres sont très proches en régime cyclique. Après un état transitoire, les valeurs à l'équilibre tendent à être les mêmes entre HL et LL pour les deux paramètres.



Ref.: BioLOV avec les paramètres standard.

Degr. : $\beta = \lambda$

PhCyc: α et k_i obtenus en conditions cycliques.

SyCyc: k_l et k_c obtenus en conditions cycliques

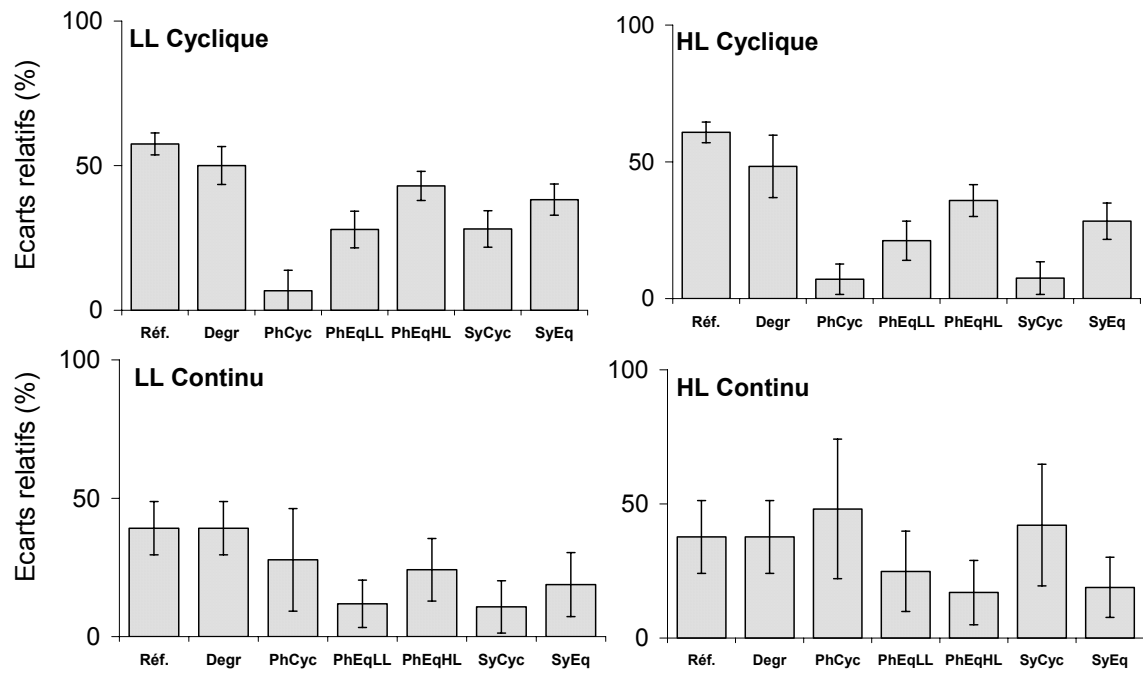
PhEqLL: α et k_i obtenus sous lumière constante LL.

SyEq : k_l et k_c obtenus sous lumière constante.

PhEqHL: α et k_i obtenus sous lumière constante HL.

Figure VII-17: Estimations pour la chlorophylle des écarts entre observations et simulations en utilisant les différents paramètres de photosynthèse et de photoadaptation estimés précédemment.

Carbone



Ref.: BioLOV avec les paramètres standard.

Degr. : $\beta = \lambda$

PhCyc: α et k_i obtenus en conditions cycliques.

PhEqLL: α et k_i obtenus sous lumière constante LL.

PhEqHL: α et k_i obtenus sous lumière constante HL.

SyCyc: k_l et k_c obtenus en conditions cycliques

SyEq : k_l et k_c obtenus sous lumière constante.

Figure VII-18: Estimations pour le carbone particulaire des écarts entre observations et simulations en utilisant les différents paramètres de photosynthèse et de photoadaptation estimés précédemment.

Tableaux VII-5: Tests de comparaison de moyenne (test de Student) entre les différentes valeurs de α et kl . Ces tests mettent en évidence que les moyennes des valeurs obtenues en régime cyclique peuvent être considérées comme identiques indépendamment de l'intensité moyenne de l'éclairement.

Type de régime	Descripteurs statistiques	Eclairement		Test $\alpha_A=\alpha_B$?
		Faible (A)	Fort (B)	
Cyclique (1)	$\alpha_{moy}=\text{écart-type } n=$	108,47 2,85 19	107,71 4,16 20	Accepté
Continu (2)	$\alpha_{moy}=\text{écart-type } n=$	95,60 2,94 8	85,41 6,29 8	Rejeté
	Test $\alpha_{\circ 1}=\alpha_{\circ 2}$?	Rejeté	Rejeté	

Type de régime	Descripteurs statistiques	Eclairement		Test $kl_A=kl_B$?
		Faible (A)	Fort (B)	
Cyclique (1)	$kl_{moy}=\text{écart-type } n=$	423,41 25,61 19	422,88 32,60 20	Accepté
Continu (2)	$kl_{moy}=\text{écart-type } n=$	507,69 26,71 8	587,56 41,21 8	Rejeté
	Test $kl_{\circ 1}=kl_{\circ 2}$?	Rejeté	Rejeté	

Tableaux VII-6: Tests de comparaison de moyenne entre les différentes valeurs de kc et kl . kl est significativement différent d'un environnement à l'autre. kc peut en revanche être considéré comme constant quelles que soient les conditions d'éclairements.

Type de régime	Descripteurs statistiques	Eclairement		Test $kl_A=kl_B$?
		Faible (A)	Fort (B)	
Cyclique (1)	$kl_{moy}=\text{écart-type } n=$	60,65 20,25 19	87,98 15,20 20	Rejeté
Continu (2)	$kl_{moy}=\text{écart-type } n=$	30,88 18,01 8	60,16 32,44 8	Rejeté
	Test $kl_{\circ 1}=kl_{\circ 2}$?	Rejeté	Rejeté	

Type de régime	Descripteurs statistiques	Eclairement		Test $kc_A=kc_B$?
		Faible (A)	Fort (B)	
Cyclique (1)	$kc_{moy}=\text{écart-type } n=$	3,75 0,14 19	3,65 0,33 20	Accepté
Continu (2)	$kc_{moy}=\text{écart-type } n=$	3,49 0,93 8	2,80 1,16 8	Accepté
	Test $kc_{\circ 1}=kc_{\circ 2}$?	Accepté	Accepté	

conditions d'éclairements. La figure VII-16 montre que kc conserve la même valeur quel que soit le type de régime (tableau VII-6). kl présente des valeurs significativement différentes pour chaque type d'éclairement, et des oscillations au cours du temps avec des valeurs élevées en fin de nuit. Ce phénomène est probablement lié au déphasage évoqué plus haut à propos de la chlorophylle, et suggère que **la photoadaptation n'est pas représentée de façon optimale dans le modèle**. A l'équilibre, kl tend vers une valeur commune entre LL et HL. Que ce soit pour kl et kc , il y a un état transitoire lors du changement de régime. Lors des simulations, on compare cette fois la phase de cycle ("Syncyc") à la phase sous lumière constante ("SynEq") indépendamment du fait que les valeurs soient issues de HL ou LL. Les simulations avec ces paramètres sont améliorées de façon comparable à ce que nous avons observé pour le taux de photosynthèse (figures VII-17 et VII-18). **Les écarts du modèle aux données se réduisent donc de façon comparable, que ce soit en modifiant les paramètres du taux de photosynthèse ou de photoadaptation.**

Ces changements de paramètres entre régimes périodique et continu suggèrent qu'une paramétrisation unique du modèle ne permet pas de rendre compte des changements des propriétés physiologiques entre ces 2 régimes. Il apparaît également que le terme de photoadaptation ne reproduit pas exactement sa dynamique, telle qu'elle est observée dans les cultures. De ce fait, il s'agit probablement d'un processus qu'il faudrait reformuler.

VI. Synthèse et discussion.

L'expérience présentée dans ce chapitre avait pour but d'étudier la croissance algale dans des conditions d'éclairement cyclique et de limitation par le substrat. Les données recueillies permettent de tester BioLOV dans un véritable cadre de colimitation azote/lumière, contrairement à l'expérience précédente où seule la lumière était limitante. Cette expérience devait également permettre de mettre en évidence la persistance éventuelle de cycles dans les processus de croissance et de photoadaptation après un passage sous éclairage constant.

VI.1. Oscillations journalières et horloge biologique.

De nombreux auteurs se sont intéressés à la présence d'une horloge biologique censée contrôler l'activité photosynthétique du phytoplancton (Doty & Oguri, 1957; Sournia, 1974 ; Chisholm & Brand, 1981; Legendre *et al.*, 1988). Selon Brand (1982), au moins la moitié des espèces phytoplanctoniques connaissent un contrôle endogène circadien de leurs activités physiologiques. Les processus concernés sont, entre autre, la photosynthèse, la respiration, la migration verticale et la biosynthèse de chlorophylle (Puisseux-Dao, 1981). Brand (1982), Falkowski & Raven (1987) font la distinction entre les variations cycliques ("*Diel periodicity*") qui résultent d'une adaptation rapide de la cellule aux changements journaliers de l'intensité lumineuse, et les rythmes circadiens ("*Circadian Rythms*") qui sont dus à la mémorisation par la cellule de son adaptation à la photopériode. Différents auteurs (e.g. Prézelin & Ley, 1980; Brand ,1982) considèrent qu'un moyen efficace pour différencier ces deux propriétés est de passer d'un environnement cyclique à un éclairage continu, comme nous l'avons fait ici.

La persistance de pics de division après le passage sous lumière continue est le signe d'un contrôle endogène circadien de la division cellulaire. La disparition progressive de ces pics au cours du temps est ensuite liée à l'augmentation de la proportion de cellules désynchronisées au cours du temps (expliquant ainsi, l'atténuation des pics). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Chisholm et Brand (1981) pour différentes espèces d'algues, et nous permettent d'affirmer que **la division est ici sous contrôle endogène circadien.**

Par contre, les oscillations de la chlorophylle ne se maintiennent pas après passage sous éclairage constant, ce qui suggère qu'elles ne sont pas dûes à un rythme endogène circadien, mais plutôt à la variation diurne du flux de photons. La concentration de chlorophylle, est déphasée LL et HL, ainsi que le rapport chlorophylle sur carbone. Mais le quota chlorophyllien n'évolue pas significativement pour les chémostats HL. Selon Post *et al.* (1984), le fait que le maximum de chlorophylle par cellule soit atteint à la fin de la journée est le signe que la régulation de son métabolisme suit un cycle endogène circadien, dont le but est d'optimiser la fixation du carbone par la cellule (Putt & Prézelin, 1988). Malgré le cycle lumineux, nous avons observé que le quota chlorophyllien évolue peu,

ce qui contredit l'hypothèse de Post *et al.* (1984). Cependant, selon divers auteurs (Chisholm & Costello, 1980, Chisholm *et al.*, 1984; Prézelin & Ley, 1980), le timing journalier de la photoadaptation peut être différent selon les conditions environnementales, ce qui pourrait plaider en faveur d'un rythme circadien. Owens *et al.* (1980) ont en revanche attribué ces oscillations aux variations journalières de la lumière. Le modèle développé dans ce chapitre rejoint cette idée en estimant la chlorophylle comme étant une fonction de la dose de lumière. L'utilisation de quantités de photons cumulées pour exprimer la photoadaptation plutôt que le recours classique à l'intensité lumineuse instantanée sera discutée plus en détail dans le chapitre IX.

VI.2. Des propriétés cellulaires différentes d'un régime lumineux à l'autre.

Les caractéristiques cellulaires diffèrent entre les régimes lumineux cyclique et constant au cours de cette expérience, mais également par rapport à celles de l'expérience précédente. Les paramètres du taux de photosynthèse et du terme de photoadaptation varient significativement entre régimes cycliques et constants. Les processus sont donc représentés de façon inégale selon ces régimes. Par conséquent, la validité de l'approche qui consiste à identifier un modèle à l'équilibre apparaît comme limitée et incertaine. D'autre part, par rapport à l'expérience précédente, l'absorption n'est pas inhibée la nuit, ce qui rend invalide l'expression de l'absorption en fonction de l'intensité lumineuse. La formulation de BioLOVabs est dans ce cas inapplicable. Selon différents auteurs (Kanda *et al.*, 1989; Cochlan *et al.*, 1991b ; Kudela *et al.*, 1997), l'absorption nocturne devient significative par rapport à l'absorption diurne lorsque le substrat est limitant pour la croissance, ce qui pourrait expliquer la mauvaise adéquation de BioLOVabs. Ces changements de propriétés posent des problèmes pour la modélisation car cela restreint en fin de compte le domaine d'application du modèle à son domaine de validation.

Ce chapitre invalide le modèle BioLOV. Le modèle identifié à l'équilibre ne

permet pas de représenter la croissance du phytoplancton limitée par le nitrate et sous régime lumineux cyclique. Cette expérience permet également de mettre en évidence le contrôle circadien de la division cellulaire. En revanche, les observations ne mettent pas en évidence l'existence d'un tel contrôle pour la synthèse des pigments qui semble d'avantage liée à la dose de photons reçus depuis le début de la phase d'éclairnement diurne.

Chapitre VIII

Comparaison de BioLOV
à des modèles plus simples

Chapitre VIII

Comparaison de BioLOV à des modèles plus simples

I. INTRODUCTION.....	139
 II. REPRESENTATION DES LIMITATIONS SIMULTANÉES SUBSTRAT/LUMIÈRE PAR LE MODELE DE MONOD.....	 140
II.1. FORMULATIONS DES DIFFÉRENTS MODÈLES.....	140
II.2. GÉNÉRATION DE DONNÉES ET IDENTIFICATION DES PARAMÈTRES DES MODÈLES.....	141
a) <i>Modèles MonodMin et MonodMult.</i>	141
b) <i>Choix d'un quota chlorophyllien pour MonodQuot.</i>	143
 III. COMPARAISON DES MODÈLES DANS LE CAS D'UN SYSTÈME SOUS DIFFÉRENTS ÉQUILIBRES.....	 143
 VI. COMPARAISON DES MODÈLES DANS LE CAS DE CULTURES SOUS ÉCLAIREMENTS VARIABLES.	 145
VI.1. COMPARAISON DES MODÈLES AUX OBSERVATIONS.....	145
a) <i>Croissance limitée par le substrat en régime lumineux cyclique.</i>	145
b) <i>Mouvement convectif dans une colonne d'eau.</i>	146
VI.2. INTERCOMPARAISON DES MODÈLES.	147
a) <i>Croissance limitée par le substrat en régime lumineux cyclique.</i>	147
b) <i>Mouvement convectif dans une colonne d'eau.</i>	147
 V. SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS.....	 148
V.1. DES MODÈLES PLUS SIMPLES ET AUSSI PERFORMANT QUE BioLOV ?	148
V.2. L'ABSORPTION DU SUBSTRAT.....	149
V.3. CYCLES JOUR/NUIT : INSUFFISANCES STRUCTURELLES OU MAUVAISE PARAMÉTRISATION ?	150

I. Introduction.

Le modèle BioLOV a été conçu pour décrire simplement la photoadaptation du phytoplancton sans avoir la complexité d'un modèle physiologique. Il se rapproche des modèles biogéochimiques dans la mesure où ses sorties, concentrations de carbone, de chlorophylle, d'azote et de nitrate sont des variables d'intérêt en océanographie. Cette orientation dans la conception de BioLOV a pour but d'améliorer l'estimation des taux de fixation du carbone dissous par le phytoplancton et ainsi de permettre d'affiner les modèles d'écosystèmes ou biogéochimiques.

Un des objectifs de ce travail est de déterminer si un modèle validé à l'équilibre fournit des résultats satisfaisants dans un environnement où les forçages sont variables et, de préférence, proches de ceux observés dans le milieu. Les expériences des chapitres VI et VII ont montré que la réponse à cette question est complexe puisque le modèle est capable de fournir de très bons résultats dans le cas du mouvement convectif et s'avère décevant dans le cas des cycles jour/nuit. Ces faits suggèrent qu'il est difficile de prévoir le comportement du modèle en dehors des conditions pour lesquelles il a été validé.

La bibliographie regorge de modèles de photoadaptation de complexités très variables, chacun avec leurs avantages et leurs faiblesses. Parallèlement, la plupart des modèles d'écosystèmes ou biogéochimiques considère la production primaire de façon bien plus simple que BioLOV. Il est donc légitime de se demander si celui-ci n'est pas trop complexe tout en gardant à l'esprit le fait que la qualité des sorties de BioLOV peut être très variable selon les conditions de limitations imposées lors des simulations.

Pour répondre à cette question, nous allons comparer BioLOV à plusieurs formulations du modèle de Monod (1942) qui tiennent compte à la fois de l'intensité lumineuse et du substrat. Ce modèle simple demeure souvent utilisé pour représenter la croissance d'organismes sous la dépendance d'un substrat. Les simulations utiliseront les mêmes forçages que ceux utilisés lors des précédentes expériences.

II. Représentation des limitations simultanées substrat/lumière par le modèle de Monod.

II.1. Formulations des différents modèles.

Le modèle de Monod en chémostat ne prend pas en compte l'effet de la lumière sur la croissance des micro-organismes, la croissance n'étant limitée que par le substrat :

$$\frac{dC}{dt} = -d \cdot C + \mu m \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot C \quad (\text{VIII.1})$$

Pour ajouter une limitation par la lumière, cette équation doit être modifiée et plusieurs formulations peuvent être choisies :

- *Loi du minimum* : le facteur (lumière, substrat) dont l'abondance/intensité est la moins favorable pour l'algue limite la croissance, et ce de façon exclusive par rapport à l'autre facteur moins limitant. Cette formulation sera appelée MonodMin :

$$\frac{dC}{dt} = -d \cdot C + \mu m \cdot \min\left(\frac{I}{I + k_{im}}, \frac{S}{S + k_{sm}}\right) \cdot C \quad (\text{VIII.2})$$

- *Loi multiplicative: paramétrisation 1 ou modèle « Monodmult »*: les deux facteurs limitent simultanément la croissance:

$$\frac{dC}{dt} = -d \cdot C + \mu m \cdot \frac{I}{I + k_{im}} \cdot \frac{S}{S + k_{sm}} \cdot C \quad (\text{VIII.3})$$

- *Loi multiplicative: paramétrisation 2 ou modèle MonodQuot*. Cette formulation reprend la loi multiplicative mais l'équation du carbone intègre le taux de photosynthèse $a(I)$ de BioLOV et utilise les mêmes valeurs de paramètres. Ce taux s'exprime en

$\mu\text{mol C} \cdot \mu\text{mol Chla}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$. Dans BioLOV, le produit de ce taux avec la concentration en chlorophylle décrit le taux de croissance brut de la biomasse exprimée en carbone particulaire. Dans MonodQuot, il est nécessaire de disposer d'un facteur de conversion entre la chlorophylle et le carbone, ce qui revient à intégrer dans l'équation du carbone un terme assimilable à un quota chlorophyllien constant $\overline{Q_L}$. Nous obtenons l'équation suivante :

$$\frac{dC}{dt} = -d \cdot C + \alpha \cdot \overline{Q_L} \cdot \frac{I}{I + k_i} \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot C \quad (\text{VIII.4})$$

En ce qui concerne le substrat, nous conservons l'équation originale du modèle de Monod :

$$\frac{dS}{dt} = -d \cdot (S_{in} - S) + \rho_m \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot C \quad (\text{VIII.5})$$

Ce choix diffère néanmoins de la théorie du modèle de Monod, car la croissance n'est plus proportionnelle (i.e. couplée) à l'absorption. Nous avons fait ce choix car cette formulation de l'absorption est identique à celle de BioLOV et nous permet d'avoir une base de référence dans la formulation de tous ces modèles permettant des comparaisons plus aisées.

II.2. Génération de données et identification des paramètres des modèles.

a) Modèles MonodMin et MonodMult.

Pour déterminer μ_m , k_{sm} et k_{im} , nous considérons que les limitations par la lumière et le substrat sont indépendantes. Il s'agit de l'approche classique où un expérimentateur ne va considérer qu'un facteur limitant à la fois, les autres étant optimaux pour la croissance. Afin de comparer les modèles par rapport à BioLOV, les données d'identification pour ces modèles

sont générées au travers des sorties de BioLOV. Le fait que BioLOV ait été validé à l'équilibre permet de générer des données théoriquement comparables à celles issues d'observations en régime statique. Cette approche devrait donc permettre une comparaison aisée de ces modèles à BioLOV mais également aux données expérimentales.

Afin de caractériser le taux de croissance en fonction de l'intensité lumineuse, on considère une culture fermée non limitée par le substrat ce qui permet de déterminer $\mu(I)$ puis μ_{mi} et kim (figures VIII-1a et VIII-1b) en appliquant une relation de type Lineweaver-Burke :

$$\frac{1}{\mu(I)} = \frac{kim}{\mu_{mi}} \cdot \frac{1}{I} + \frac{1}{kim} \quad (\text{VIII.6})$$

Nous déduisons que $\mu_{mi}=1,27 \text{ j}^{-1}$ et $kim=21 \text{ } \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Pour déterminer la croissance en fonction de la disponibilité en substrat, des simulations sont produites avec une intensité lumineuse saturante pour la croissance ($600 \text{ } \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). En combinant dilution et solution du substrat à l'équilibre, nous disposons d'une relation directe entre croissance $\mu(S)$ et substrat. μ_m et ksm (figures VIII-2a et VIII-2b) sont déterminés grâce à la relation suivante :

$$\frac{1}{\mu(S)} = \frac{ksm}{\mu_m} \cdot \frac{1}{S^*} + \frac{1}{\mu_m} \quad (\text{VIII.7})$$

De cette relation, nous déduisons que $\mu_m=0,68 \text{ j}^{-1}$ et $ksm=0,7 \text{ } \mu\text{M NO}_3$.

Cette approche n'est pas parfaite, car les taux de croissance maximale calculés à partir de ces deux relations ne sont pas les mêmes, alors que les données viennent d'une unique simulation. Nous considérerons la moyenne de ces deux taux. En fait, cette différence est liée à l'origine des données. Dans le cas de la limitation par le substrat, les paramètres sont déterminés sur la base des solutions à l'équilibre donc dans un système contraint par le taux de dilution et, dans le cas de la limitation par lumière, nous avons considéré une phase de croissance exponentielle : la dilution n'intervient pas et le taux de croissance peut être plus élevée que dans un système contraint.

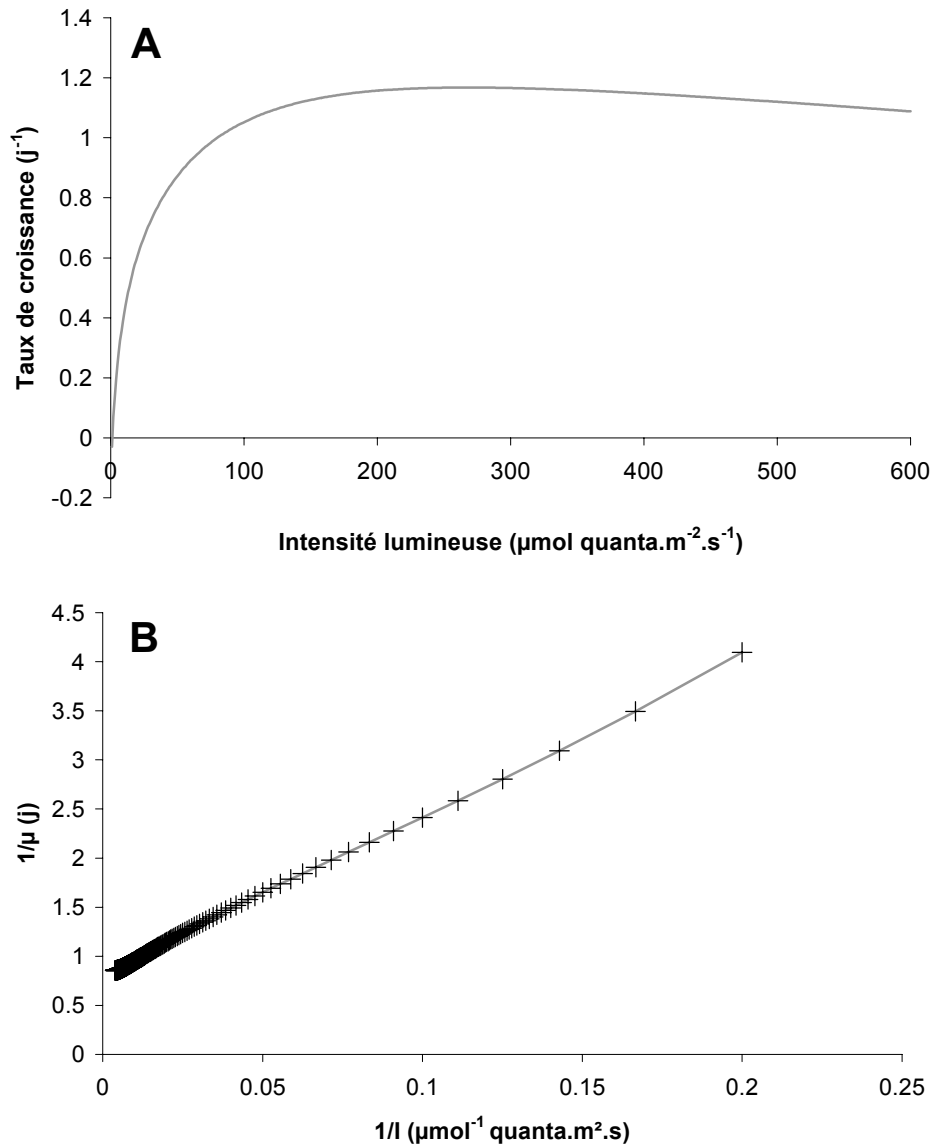


Figure VIII-1: a) Taux de croissance en fonction de l'intensité lumineuse à partir des sorties du modèle bioLOV. La décroissance du taux de croissance observée à la forte intensité n'est pas liée à un phénomène de photoinhibition (qui est lui dépendant de la durée d'exposition des algues aux fortes intensités). Il s'agit d'une propriété résultant de l'écriture du modèle.
b) Représentation de type de Lineweaver-Burke des données précédentes. La relation à peu près linéaire permet d'identifier taux de croissance maximal et coefficient de demi saturation.

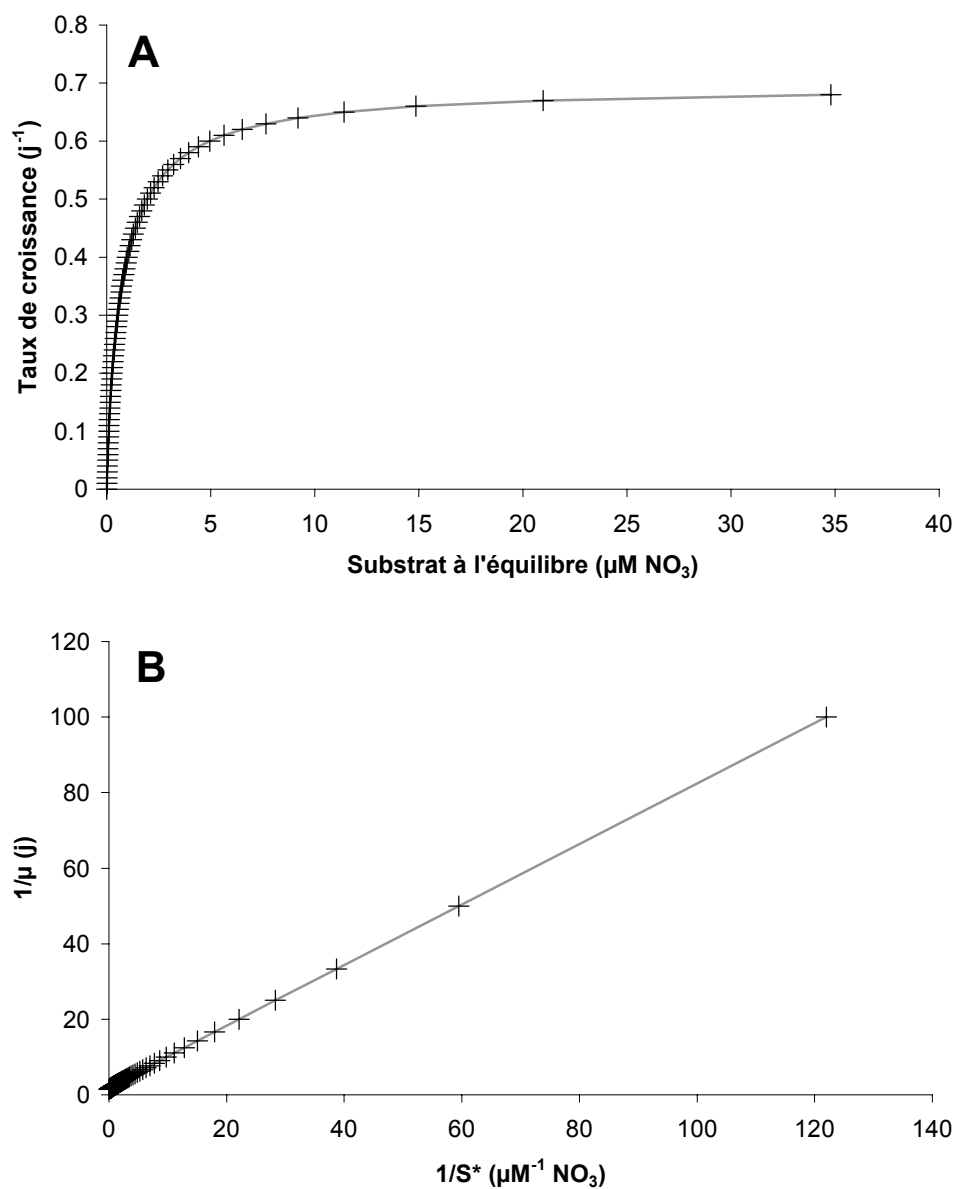


Figure VIII-2: a) Taux de croissance en fonction du substrat à partir des sorties du modèle bioLOV.
b) Représentation de type de Lineweaver-Burke pour l'identification des paramètres.

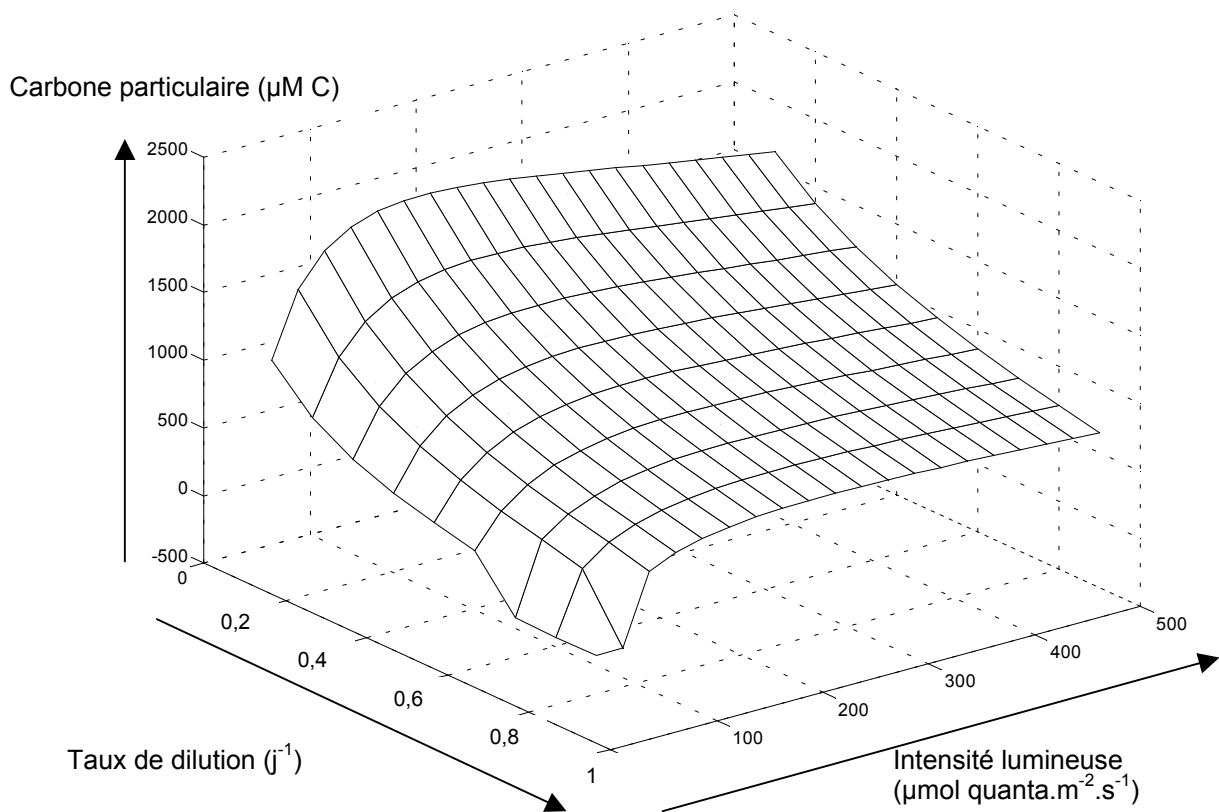


Figure VIII-3 : Equilibres du carbone particulaire pour le modèle BioLOV selon l'intensité lumineuse et le taux de dilution. Ces équilibres constituent les données de référence pour la comparaison avec les autres modèles dans le cadre de l'équilibre.

b) Choix d'un quota chlorophyllien pour MonodQuot.

Le quota chlorophyllien $\overline{Q_L}$ est le seul paramètre de MonodQuot qui nécessite une identification, les autres étant issus de BioLOV. $\overline{Q_L}$ a été estimée à 0,115 $\mu\text{mol Chl } a.\mu\text{mol C}^{-1}$, valeur pour lesquelles les quantités de carbone fixées pour BioLOV et MonodQuot sont les plus proches possibles pour un ensemble de points d'équilibres pour différents taux de dilution (entre 0,1 à 0,9 j^{-1} par pas de 0,1) et d'intensités lumineuses (entre 25 et 500 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ par pas de 25).

III. Comparaison des modèles dans le cas d'un système sous différents équilibres.

Nous avons testé les modèles grâce à des simulations dynamiques qui explorent un ensemble de couples dilution/intensité lumineuse ; entre 0,1 à 0,9 j^{-1} par pas de 0,1 pour la dilution avec une concentration *Sin* en nitrate à 100 μM et entre 25 et 500 $\mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ par pas de 25 pour l'intensité lumineuse. L'intercomparaison se focalise sur la concentration du carbone particulaire à l'équilibre. Pour cet exercice, nous considérons que les sorties de carbone particulaire du modèle BioLOV à l'équilibre (figure VIII-3) constituent les données de référence car nous n'avons pas de données expérimentales pour chaque couple de dilution/intensité lumineuse. Ceci est possible puisque ce modèle a été validé à l'équilibre.

Afin de faciliter la comparaison entre les modèles, les résultats des simulations sont exprimés sous la forme d'écarts relatifs et absolus par rapport au modèle. L'écart relatif considère le signe de la différence entre les modèles et BioLOV pour indiquer les tendances à la sur- ou sous-estimation. Cependant, en faisant des moyennes sur ces écarts, les valeurs négatives peuvent être compensées par les valeurs positives et donc ne pas refléter le degré d'inadéquation entre les modèles. Pour cela, les écarts absolus sont également calculés et seul l'importance du biais entre 2 modèles compte quel que soit le signe. Les résultats sont

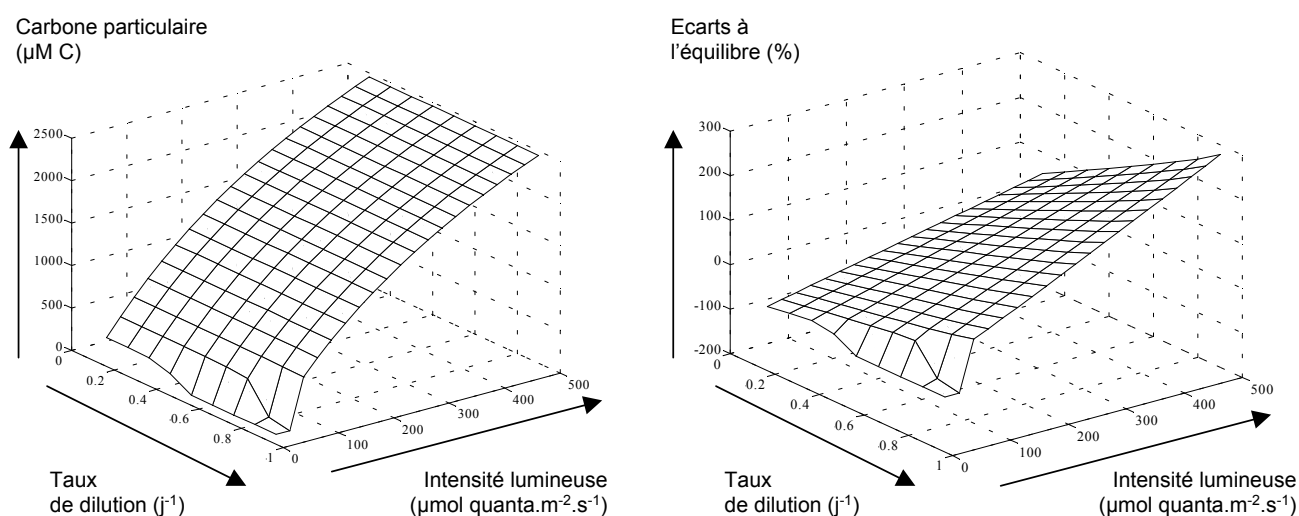


Figure VIII-4 : a) Equilibres du carbone particulaire pour le modèle **MonodQuot**. Les solutions à l'équilibre varient essentiellement en fonction de l'intensité lumineuse. b) écarts par rapport aux solutions équivalentes du modèle BioLOV. Un écart positif indique que la concentration en carbone particulaire est surestimée par rapport à BioLOV et inversement. Ce modèle présente de fortes variations de biomasse. L'écart moyen sur l'ensemble des équilibres est de $52,6 \pm 84,4 \%$ ($77,2 \pm 62,6 \%$ en valeur absolue). Les solutions à l'équilibre évoluent essentiellement par rapport à l'intensité lumineuse. Pour les faibles valeurs d'intensité et de dilution, le modèle sous-estime les équilibres du carbone. L'augmentation de la dilution et de la lumière contribue à réduire l'écart entre BioLOV et ce modèle. Pour les fortes intensités et dilution, la situation est inverse avec une surestimation du carbone particulaire. La dilution et la lumière contribuent alors à augmenter cet écart.

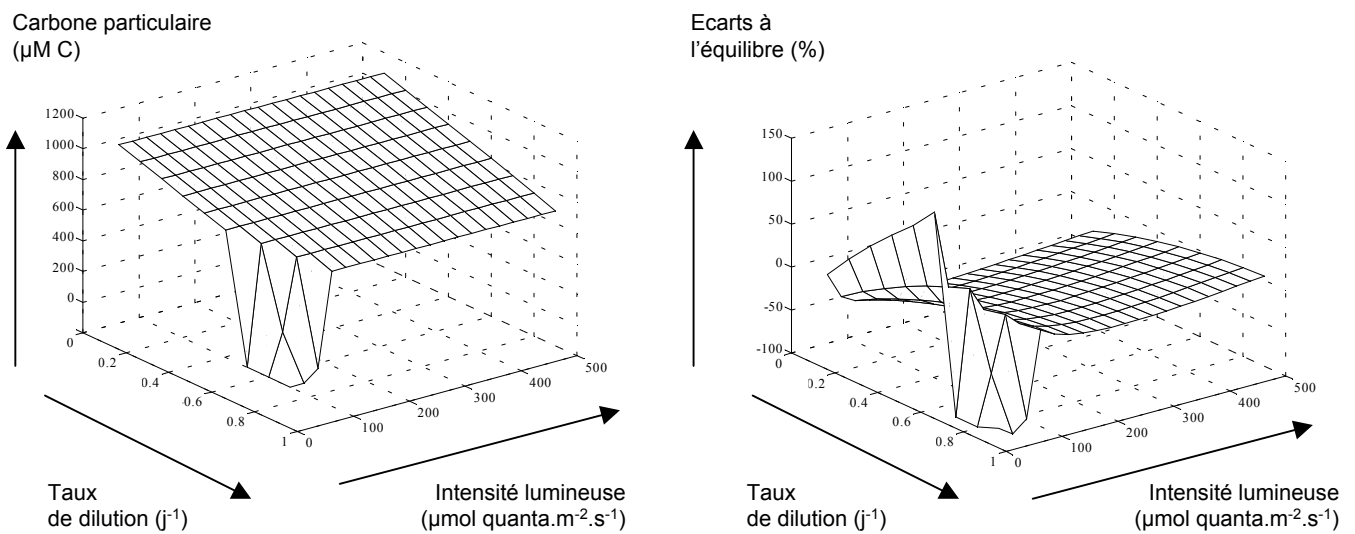
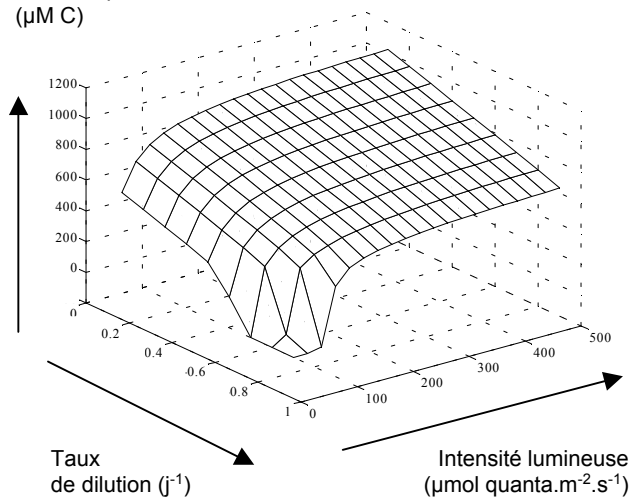


Figure VIII-5 : a) Equilibres du carbone particulaire pour le modèle **MonodMin**. Les variations du taux de dilution ont le plus d'effet sur les solutions à l'équilibre. b) écarts par rapport aux solutions du modèle BioLOV. Ce modèle présente des résultats relativement proches de ceux de BioLOV. L'écart moyen sur l'ensemble des équilibres est $-14,6 \pm 25,9 \%$ ($21,5 \pm 20,5 \%$ en valeur absolue). Les écarts tendent à diminuer avec la lumière mais demeurent la plupart du temps indépendants de ce facteur. C'est essentiellement le taux de dilution qui influe sur les écarts. Le taux de dilution tend à réduire les écarts entre les 2 modèles à mesure que celui-ci augmente. MonodMin tend à sous-estimer la biomasse la plupart du temps hormis aux faibles éclaircissements où il l'a surestime.

Carbone particulaire
($\mu\text{M C}$)



Ecart à
l'équilibre (%)

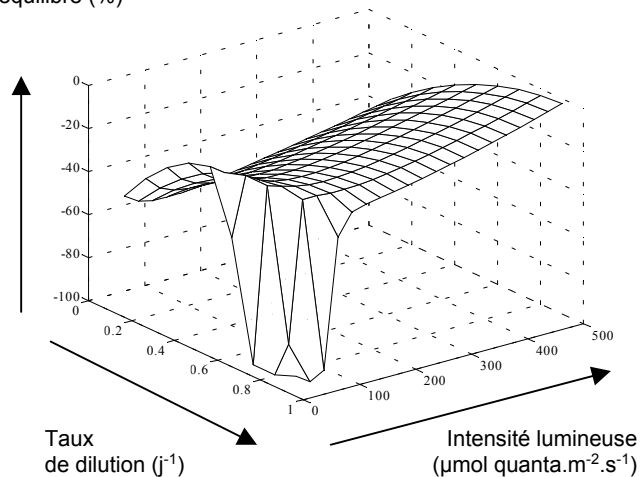


Figure VIII-6 : a) Equilibres du carbone particulaire pour le modèle **MonodMult**. MonodMult. tend à sous-estimer en général le carbone particulaire par rapport à BioLOV. L'écart moyen sur l'ensemble des équilibres est de $-28,9 \pm 16,8 \%$ ($28,9 \pm 16,8 \%$ en valeur absolue). La biomasse varie essentiellement sous l'action de la lumière mais également par l'intermédiaire du taux de dilution b) écarts par rapport aux solutions du modèle BioLOV. L'augmentation de la dilution et de la lumière tend à réduire les écarts.

présentés sur les figures VIII-4, VIII-5 et VIII-6. Des 3 modèles, MonodMin est le plus proche de BioLOV hormis dans le cas des très faibles intensités lumineuses. MonodQuot et MonodMult présentent en revanche des écarts très marqués par rapport à BioLOV.

L'intercomparaison des modèles suggère qu'un modèle relativement complexe comme BioLOV, s'il est certes capable de reproduire avec un certain réalisme différentes situations d'équilibre, n'est pas forcément meilleur qu'un modèle très simple comme MonodMin pour représenter des quantités de carbone. Celui-ci, dont les résultats sont proches de BioLOV, montre que le facteur le plus limitant pour la croissance est le manque de nitrate. BioLOV intègre la carence en nitrate par une réduction de la production de chlorophylle. Aux intensités lumineuses saturantes, le taux de photosynthèse varie peu de sorte que la fixation du carbone dépend essentiellement de la concentration en chlorophylle, elle-même régulée par l'azote particulaire non chlorophyllien. Cette forme d'azote dépend, quant à elle, directement de la quantité de substrat disponible et de la dégradation des pigments. Aux fortes intensités, c'est donc le pool d'azote non chlorophyllien qui régule la croissance de BioLOV. Les augmentations de dilution favorisent un flux d'azote extracellulaire accru vers ce pool via l'absorption. La croissance de MonodMin est quant à elle limitée uniquement par le substrat et donc la croissance est là aussi favorisée par la dilution.

Les modèles multiplicatifs (MonodMult et Monodquot) se comportent de façon comparable aux fortes intensités puisque la croissance dépend uniquement de la concentration en substrat. Les différences entre BioLOV et MonodMin apparaissent lorsque la lumière n'est plus saturante. BioLOV compense la diminution de lumière par une synthèse accrue de pigments à partir du pool d'azote non chlorophyllien, ce qui permet de maintenir une croissance élevée alors que les modèles multiplicatifs deviennent limités à la fois par le substrat et les sels nutritifs. Le fait qu'ils ne représentent pas le phénomène de compensation constitue, dans cette situation de colimitation, une faiblesse structurelle.

MonodMin n'intègre pas non plus le phénomène de compensation mais sa croissance n'est limitée que par un facteur à la fois et il s'agit ici essentiellement du substrat donc l'effet de la lumière sur la croissance est la plupart du temps inexistant. En effet, deux facteurs défavorables vont agir simultanément dans un modèle multiplicatif, alors que pour le modèle de type loi du minimum, seul le facteur le plus défavorable compte. Ceci permet à MonodMin de ne pas tenir compte de l'effet négatif du manque de lumière, un peu comme BioLOV

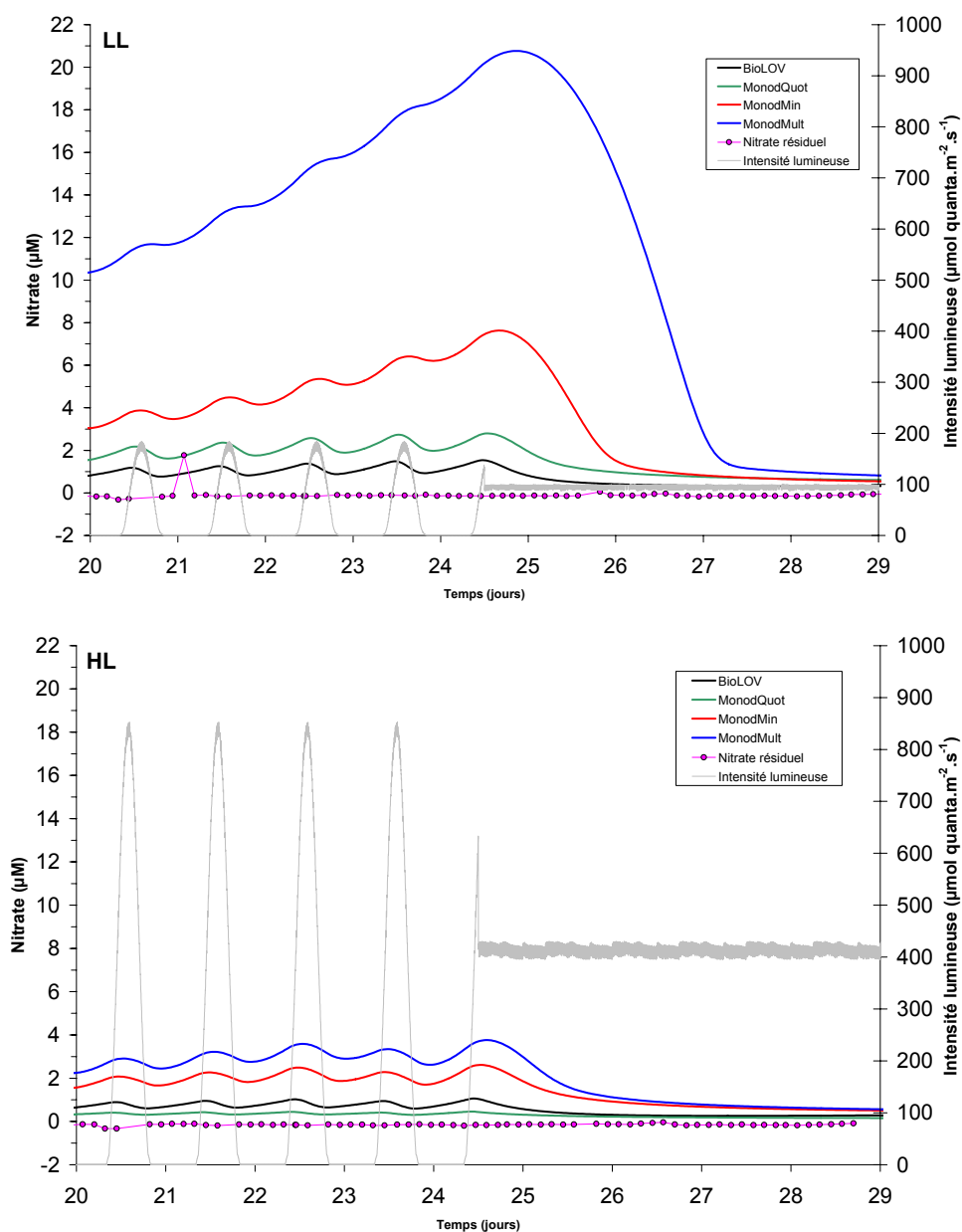


Figure VIII-7 : Nitrate résiduel dans le cas d'un régime lumineux cyclique (jusqu'au milieu du 24^{ième} jour) puis sous lumière constante. Le nitrate est surestimé pour les deux séries d'éclairement. Les oscillations ne correspondent pas à une dépendance de l'absorption par rapport à la lumière mais sont liées aux variations de la biomasse entre le jour (croissance) et la nuit (perte).

atténue cet effet au travers du phénomène de compensation.

Si l'examen des différents modèles à l'équilibre montre qu'un modèle de type loi du minimum fournit des estimations de carbone similaires à celles de BioLOV, en est-il de même dans le cas d'environnements lumineux fluctuants ?

VI. Comparaison des modèles dans le cas de cultures sous éclairagements variables.

Nous testerons d'abord le comportement général des modèles par rapport aux données expérimentales, puis nous regarderons ensuite quels modèles simulent le mieux la dynamique de la biomasse.

VI.1. Comparaison des modèles aux observations.

a) Croissance limitée par le substrat en régime lumineux cyclique.

Cette partie étudie le comportement des modèles présentés précédemment en utilisant les mêmes forçages que ceux appliqués lors de l'expérience en lumière cyclique puis continue. Nous considérons à nouveau 2 types de séries d'éclairement: HL, sous forte irradiance, typiquement les mesures de lumière des chimostats 2 et 3 et LL, sous faible irradiance qui correspond aux mesures du chimostat 1. *Sin* est fixé à 65 μM .

L'ensemble des modèles présente des résultats qui diffèrent quantitativement des observations malgré un comportement qualitatif cohérent par rapport aux fluctuations de l'intensité lumineuse. Le nitrate résiduel (figure VIII-7) a tendance à être surestimé par tous les modèles, surtout à faible intensité lumineuse en raison du manque de biomasse. Le

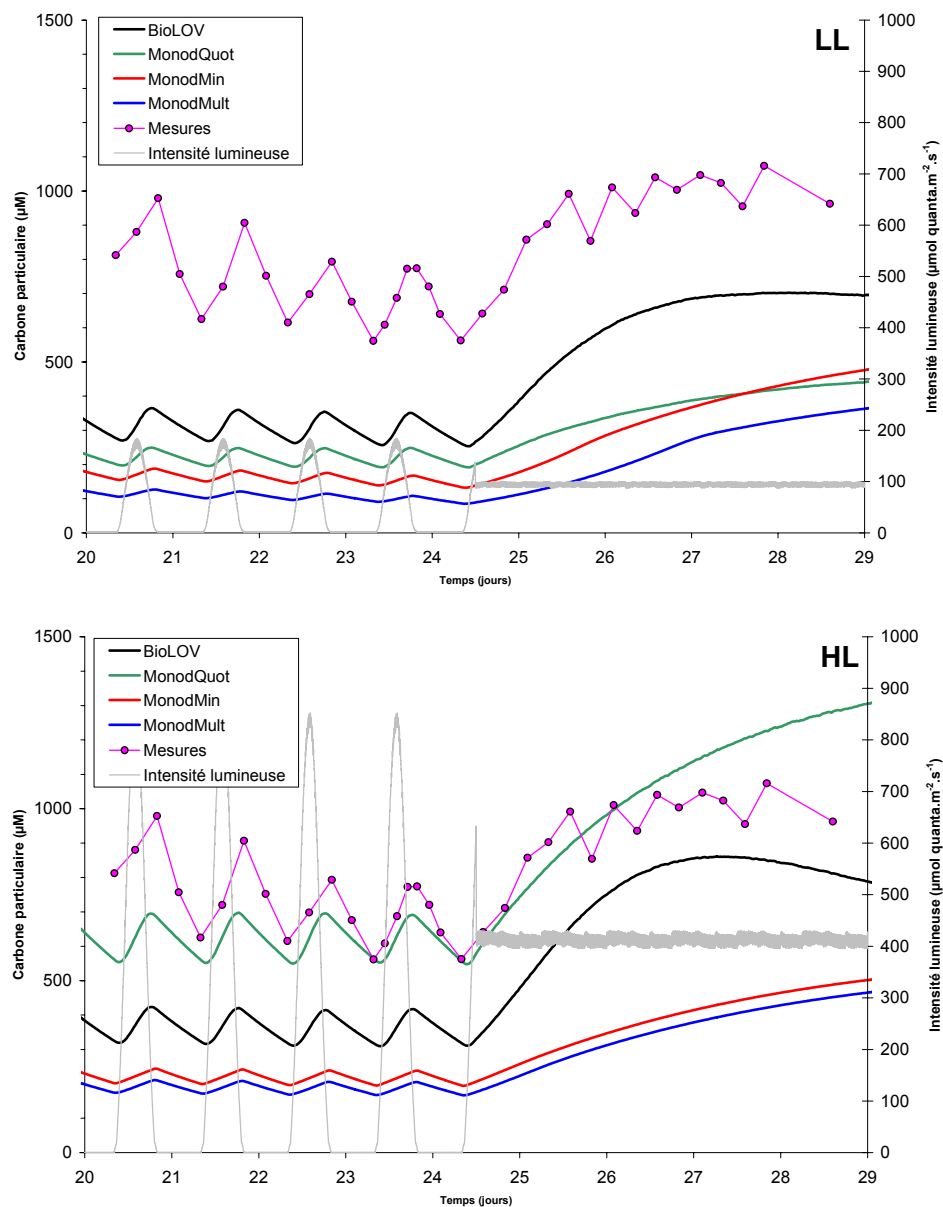


Figure VIII-8 : Comparaison des sorties des différents modèles aux mesures de carbone particulaire. Les modèles sous-estiment en général la quantité de carbone particulaire. MonodMin et Monomult présentent les écarts les plus élevés. MonodQuot, selon l'intensité lumineuse moyenne, produit des résultats proches de la réalité ou inférieurs à ceux de BioLOV.

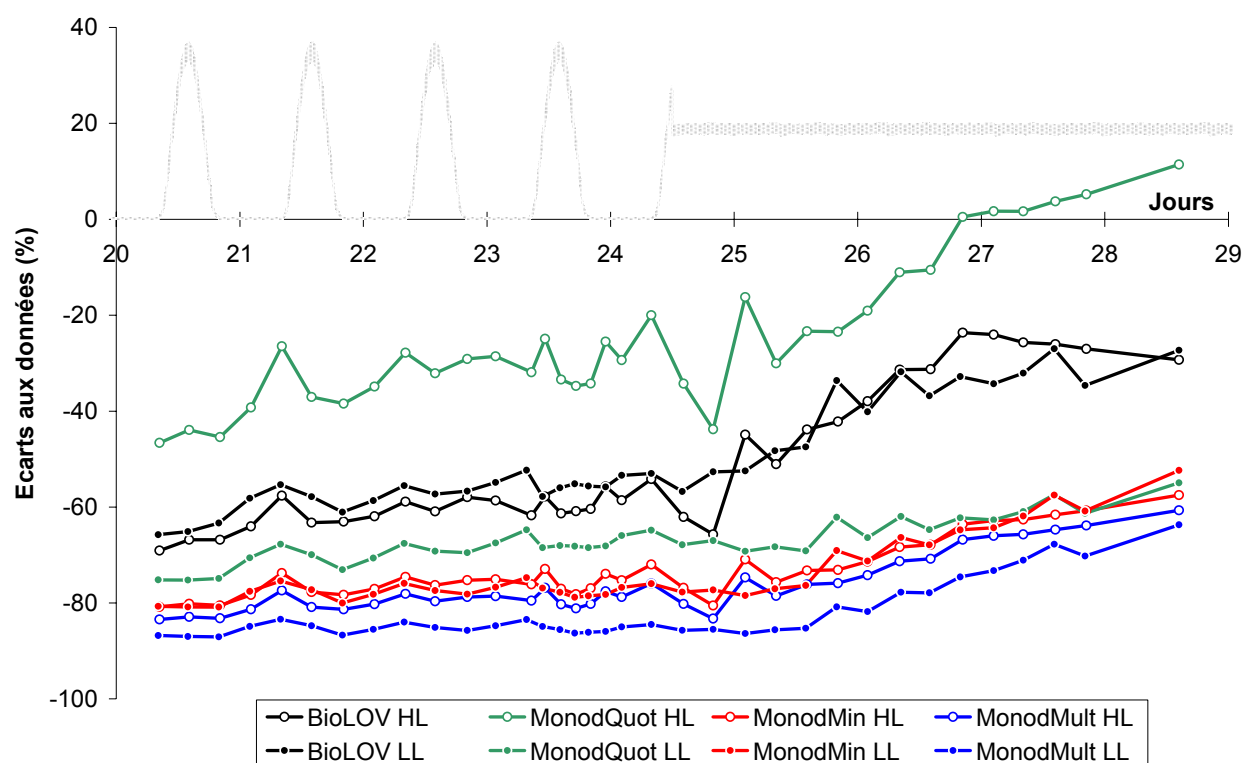


Figure VIII-9 : Ecart relatif entre carbone particulaire mesurés et sorties des modèles. Les valeurs négatives indiquent que le carbone est la plupart du temps sous-estimé. Ces écarts se réduisent lors de la phase sous lumière continue par rapport à celle sous lumière cyclique. Hormis MonodQuot, les écarts aux observations n'évoluent pas si l'on oppose les chémostats HL et LL ce qui implique que c'est davantage la nature du signal et ses implications sur la biologie qui modifie ces écarts que l'intensité lumineuse.

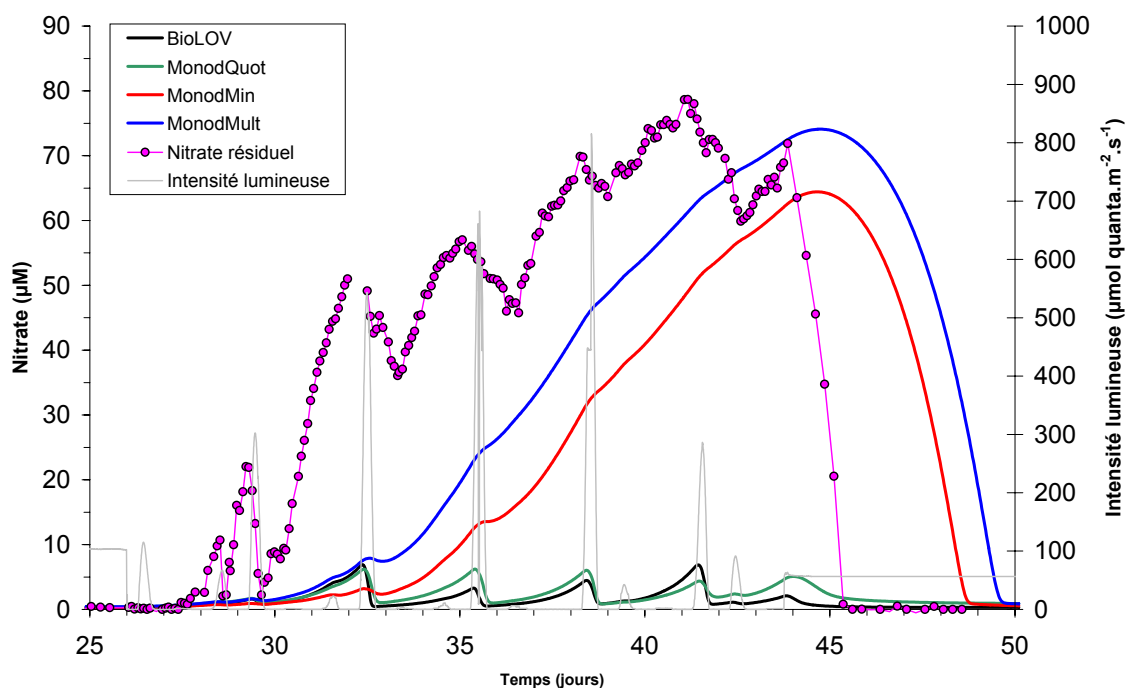


Figure VIII-10 : Comparaison de l'évolution du nitrate pour les différents modèles. MonodMin et MonodMult sont capables de d'atteindre des niveaux de substrat résiduels comparables aux observations mais sans la variabilité journalière observée entre phase d'accumulation dans le milieu la nuit et consommation du substrat le jour. MonodQuot et BioLOV absorbent en revanche beaucoup plus de substrat. Les formulations de l'absorption ne diffèrent pas entre ces modèles, par conséquent, les disparités observées proviennent de biomasses très différentes d'un modèle à l'autre.

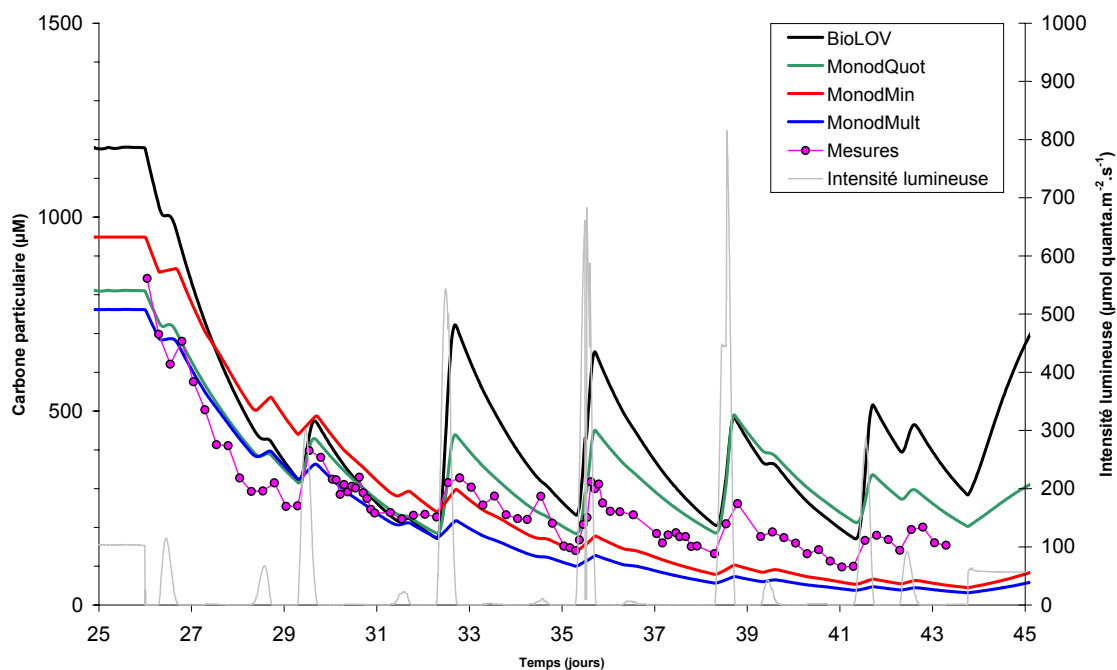


Figure VIII-11 : Evolution du carbone particulaire simulé par les différents modèles. L'évolution qualitative de chaque modèle est comparable aux observations mais aucun n'est capable de simuler correctement les concentrations en carbone particulaire sur l'ensemble de l'expérience. BioLOV et MonodQuot surestiment la biomasse pendant la majorité de l'expérience alors que MonodMin et MonodMult la surestiment jusqu'au 31^{ème} jour puis la sous-estiment pendant le restant de l'expérience.

carbone particulaire (figure VIII-8) est en effet sous-estimé par chaque modèle. En superposant pour chaque modèle les écarts entre valeurs mesurées et simulées de carbone particulaire pour HL et LL (figure VIII-9), on constate d'abord que les écarts sont plus importants pour le régime lumineux cyclique que sous lumière continue. Ensuite, hormis MonodQuot, les modèles ont des écarts qui diffèrent peu entre les simulations HL et LL. Le fait que MonodQuot puisse surestimer ou sous-estimer la biomasse en fonction de l'intensité lumineuse suggère que le modèle est peu apte à reproduire les observations. Enfin, les écarts ne montrent pas de variations cycliques entre le jour et la nuit ce qui tend à prouver que les modèles sont qualitativement corrects à l'échelle diurne.

b) Mouvement convectif dans une colonne d'eau.

Nous considérons maintenant la situation de mouvement convectif dans une couche de mélange profonde et réalisons deux simulations avec les mêmes forçages que lors de l'expérience du chapitre VI. Nous réalisons une simulation avec les modèles précédents, et une avec une formulation de l'absorption dépendante de la lumière. Nous testons dans un premier temps comment se comportent les modèles standards dans un contexte où seule la lumière est limitante pour la croissance, puis observons comment la prise en compte du facteur lumière dans l'absorption affecte le comportement de ces modèles. Pour réaliser les simulations avec une absorption dépendante de la lumière, chaque modèle voit son équation du substrat modifiée tout en conservant les valeurs de leurs paramètres respectifs d'absorption:

$$\frac{dS}{dt} = d \cdot (S_{in} - S) - \rho m \cdot \frac{S}{S + k_s} \cdot \frac{I}{I + k_{ipm}} \quad (\text{VIII.8})$$

où k_{ipm} est fixé à $1,5 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Quand l'absorption du substrat dépend de la lumière, les simulations montrent que les concentrations en nitrate (figure VIII-10) sont globalement sous-estimées par l'ensemble des modèles. Aucun de ces modèles ne représente l'évolution du carbone (figure VIII-11) de façon suffisamment satisfaisante malgré des comportements qualitatifs conformes aux

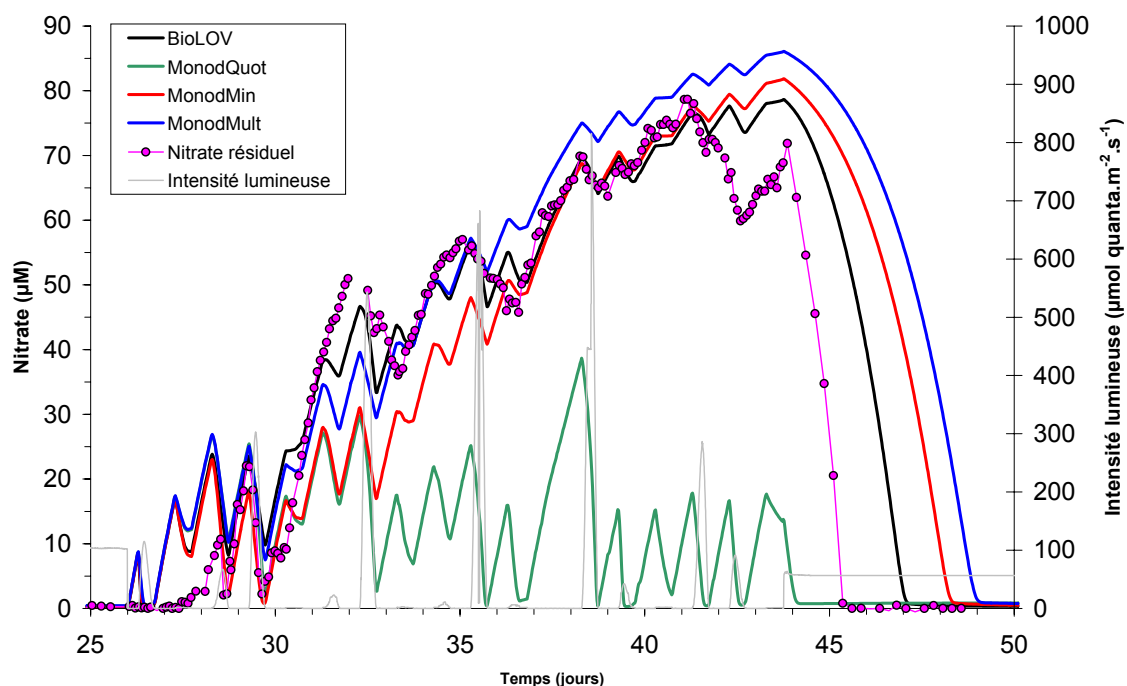


Figure VIII-12 : Evolution des concentrations en nitrate simulées par les différents modèles lorsque ceux-ci utilisent une formulation de l'absorption dépendante de l'intensité lumineuse. BioLOV, MonodMin et MonodMult ont des comportements satisfaisants par rapport aux observations avec un enrichissement progressif du milieu en nitrate la nuit et une consommation plus faible le jour, ce qui permet une accumulation de nitrate dans le milieu au cours de l'expérience. MonodQuot, en surestimant la biomasse, consomme tout le nitrate durant la journée. Celui-ci ne s'accumule pas dans le milieu comme pour les autres modèles durant la simulation.

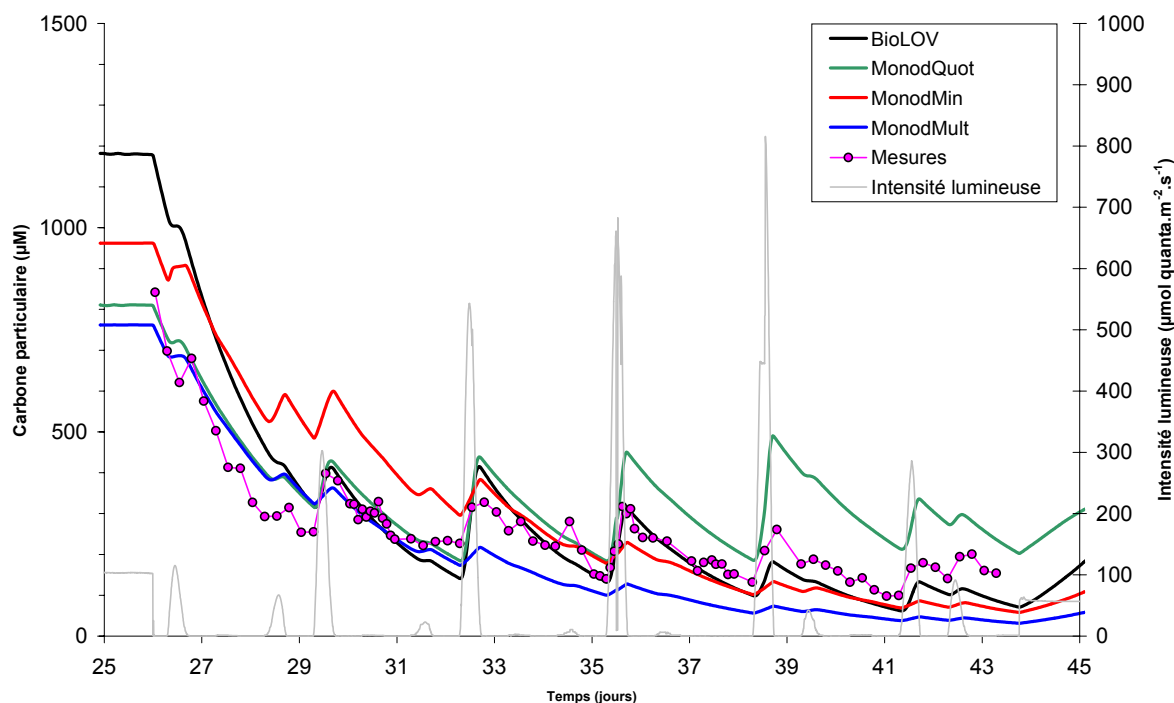


Figure VIII-13 : Evolution des concentrations simulées en carbone particulaire pour les différents modèles modifiés. L'absorption du nitrate dépendante de la lumière permet d'obtenir des simulations bien plus proches de la réalité. BioLOV présente les simulations les plus proches. Hormis MonodQuot qui surestime la biomasse, les autres modèles présentent des simulations satisfaisantes mettant ainsi en avant le bénéfice d'utiliser une absorption dépendante du flux de photon.

observations. Dans le cas des simulations où l'absorption dépend de l'intensité lumineuse, les nouvelles simulations du substrat révèlent que, hormis MonodQuot, les résultats sont très proches des observations (figure VIII-12). La figure VIII-13 montre que les modèles surestiment au début la biomasse lors du passage du régime continu aux cycles avant de se répartir de part et d'autres des observations.

VI.2. Intercomparaison des modèles.

a) Croissance limitée par le substrat en régime lumineux cyclique.

Suivant les dynamiques du substrat résiduel (figure VIII-7), les modèles se répartissent en deux groupes : MonodQuot et BioLOV qui présentent les concentrations les plus proches de la réalité, et MonodMin et MonodMult. Ceci est lié au fait que MonodQuot utilise les mêmes paramètres d'absorption que BioLOV alors que MonodMin et MonodMult utilisent leurs propres paramètres. Concernant le carbone particulaire (figure VIII-8), les modèles MonodMin et MonodMult sont ceux qui présentent les écarts les plus élevés. Dans le cas des simulations obtenues sous fort éclaircissement, MonodQuot est le plus proche des observations, suivi de BioLOV. En revanche, sous faible éclaircissement, BioLOV est le plus proche des observations. Les écarts aux mesures de carbone particulaire (figure VIII-9) montrent que MonodQuot et BioLOV ont tendance à se démarquer des autres modèles pour la phase de régime cyclique. Ces différences tiennent là aussi à une paramétrisation différente de la croissance entre BioLOV et MonodQuot par rapport à MonodMin et MonodMult.

b) Mouvement convectif dans une colonne d'eau.

Dans le cas des simulations où l'absorption du substrat est indépendante de la lumière, la figure VIII-10 montre que MonodMin et MonodMult sont capables de représenter de façon grossière l'accumulation du nitrate dans le milieu alors que pour MonodQuot et surtout BioLOV, presque tout le substrat a été absorbé. L'accumulation de nitrate pour MonodMin et

MonodMult résulte vraisemblablement du fait que la biomasse est beaucoup plus faible que pour MonodQuot et BioLOV comme le montre la figure VIII-11. BioLOV et MonodQuot surestiment le carbone particulaire par rapport aux données alors que MonodMin et MonodMult le sous-estiment. Lorsque l'absorption est dépendante de la lumière, les simulations de substrat résiduel (figure VIII-12) sont satisfaisantes, hormis pour MonodQuot. Lors des phases d'éclairement, ce modèle montre que tout le substrat est absorbé, ce qui est vraisemblablement dû à une surestimation de la biomasse aux fortes intensités. Lors des pics d'éclairement, la biomasse la plus forte est produite par ce modèle (figure VIII-13), et est vraisemblablement suffisante pour absorber tout le substrat contrairement aux autres modèles. La figure VIII-13 montre également que le modèle BioLOV demeure le plus proche des mesures de carbone particulaire, ainsi que MonodMin. MonodMult est, quant à lui, en marge des autres modèles en produisant les biomasses les plus faibles. Les différences avec MonodQuot ne sont dues qu'à la valeur des paramètres, et par conséquent MonodQuot, présente à intensité lumineuse égale, une croissance plus forte que celle observée pour MonodMult.

V. Synthèse et conclusions.

Comparer différents modèles est une entreprise délicate car s'ils sont capables de décrire les mêmes variables d'un système, ils utilisent une formulation différente ce qui implique des dynamiques différentes par rapport aux forçages extérieurs. Les résultats de ce chapitre montrent qu'il est difficile de répondre de façon générale à la question de la complexité idéale d'un modèle. Néanmoins, cette étude a permis de dégager différents points dont nous allons faire la synthèse ici.

V.1. Des modèles plus simples et aussi performant que BioLOV ?

Les modèles simples testés ne fournissent globalement pas de meilleurs résultats que ceux obtenus par BioLOV qui sont les plus proches des observations. Cependant, ces modèles

ne sont pas pour autant incohérents avec les observations. Ils ont en effet tous un comportement qualitatif correct, et une identification plus poussée des paramètres ou plus adaptée à chaque situation de forçage permettrait probablement d'avoir des simulations plus proches des observations que celles de BioLOV. Mais ceci revient alors à considérer qu'un modèle n'est valable que s'il utilise les mêmes forçages que celui qui a servi à sa validation. **Par conséquent, s'il ne s'agit que d'estimer des quantités de carbone, BioLOV pourrait donc être remplacé par des modèles plus simples sous réserve de disposer de paramètres adaptés aux différents cas de figure imposés par les forçages.**

V.2. L'absorption du substrat.

Les modèles présentés ici ont besoin d'une formulation de l'absorption dépendante de la lumière pour être capables de reproduire les observations dans le cas des déplacements convectifs où la croissance n'est pas limitée par le substrat. En revanche sous lumière cyclique et dans le cadre d'une croissance limitée par le nitrate, une absorption dépendante de la lumière a comme pour conséquence, une moins bonne représentation du carbone. De ce fait, nous avons choisi de ne considérer l'absorption dépendante de la lumière que dans le cas des cycles convectifs où le substrat résiduel était abondant.

La formulation de type loi du minimum produit des résultats proches de ceux obtenus par BioLOV. Il convient de souligner que les modèles sont ici dans des conditions environnementales où seul un facteur, en l'occurrence la lumière, est limitant pour la croissance. La capacité d'absorption du nitrate conditionne néanmoins les niveaux de biomasse. Pour BioLOV, elle conditionne la capacité à produire les pigments photosynthétiques. Pour les modèles multiplicatifs, l'accumulation de substrat résiduel dans le milieu favorise un taux d'absorption maximal. L'estimation du taux de croissance tend à devenir indépendant de la concentration en substrat. Pour le modèle de type loi du minimum, l'accumulation de nitrate conditionne au cours du temps les phases où la croissance est limitée par la lumière ou par le substrat mais elle met au plus bas le seuil de limitation par le substrat

et c'est par conséquent la lumière qui devient là aussi le facteur le plus limitant.

V.3. Cycles jour/nuit : Insuffisances structurelles ou mauvaise paramétrisation ?

Tous les modèles présentés ici fournissent de mauvais résultats sous régimes lumineux cycliques et pour tous les modèles en régime cyclique, malgré des comportements qualitatifs satisfaisants, suggèrent que les valeurs des paramètres, acquises à l'équilibre, ne sont plus valables dans cette situation.

Pour y remédier, on peut considérer que les processus sont bien formulés mais mal paramétrés ce qui nécessite une nouvelle identification des paramètres, ou que la réponse du modèle est mauvaise car les forçages de ces expériences mettent en avant soit des propriétés qui n'ont pas été prises en compte à l'équilibre (l'absorption dépendante de la lumière est un exemple de ce type de propriétés émergentes), soit parce que les propriétés des processus représentés ne sont plus les mêmes pour ce type d'expérience. Un autre phénomène qui peut intervenir est la synchronisation de la population. Dans le cas d'une culture à l'équilibre, le phénomène ne s'observe pas mais, dans le cas de cycles lumineux, les variations journalières de la population sont significatives.

En d'autres termes, la formulation d'un processus, valable pour un type de forçage particulier, l'est pas forcément pour d'autres types. Dans ce cas, on peut envisager de modifier la structure avec de nouvelles hypothèses, mais il faut alors recommencer toutes les démarches d'identification et de validation.

Dans les présentes simulations, les modèles les plus simples ont les plus mauvais résultats en régime lumineux fluctuant. Rectifier leurs paramètres peu nombreux permettrait probablement d'avoir de meilleures simulations que BioLOV mais le cadre de validité de ces paramètres serait beaucoup plus restreint. En effet, cela reviendrait davantage à ajuster un modèle à un jeu de données issues d'une situation particulière que d'identifier un jeu de paramètres plus ou moins valable pour une variété de situations. D'un autre côté, changer la

structure de ces modèles dans le but de les améliorer reviendrait à complexifier leurs propriétés et à se rapprocher de BioLOV qui fournit malgré tout les résultats les plus proches de la réalité. **Quelle que soit la complexité du modèle, l'identification à l'équilibre se révèle ici insuffisante pour fournir des simulations satisfaisantes.**

Cette comparaison entre modèles de complexité variable met donc en avant le fait que des modèles simples peuvent simuler une production de carbone similaire à celle de BioLOV. Cependant, ces modèles qui reposent sur hypothèses simplifiées comme BioLOV ne sont pas satisfaisants, par exemple, lors des cycles jours/nuit où le substrat est limitant pour la croissance. Le fait de disposer d'un modèle détaillé de la photoadaptation comme BioLOV est alors un atout pour rechercher les raisons des imperfections du modèle, et émettre de nouvelles hypothèses en vue de l'améliorer. Le nombre plus élevé de paramètres permet un ajustement plus fin aux différentes conditions du milieu. BioLOV présente également un avantage considérable sur ces modèles car il fait en effet le lien entre différentes grandeurs d'intérêt en océanographie, en particulier la chlorophylle qui constitue généralement une donnée dont les mesures sont généralement très abondantes.

Chapitre IX
Discussion générale
et perspectives

Chapitre IX

Discussion générale et perspectives

I. RAPPEL DU CONTEXTE DE CETTE ETUDE.	154
 II. FAITS EXPERIMENTAUX MARQUANTS ET LEURS CONSEQUENCES POUR LA MODELISATION DE LA PRODUCTION PRIMAIRE.	 154
II.1. VARIATIONS DU RAPPORT CARBONE SUR CHLOROPHYLLE	154
II.2. NIVEAU DE COMPLEXITE DE BioLOV.....	157
II.3. LA VALIDATION DE MODELES A L'EQUILIBRE ABOUTIT-ELLE A DES SIMULATIONS FIABLES DANS LE CADRE D'ENVIRONNEMENTS FLUCTUANTS ?.....	158
II.4. INFLUENCE DE CYCLES LUMINEUX SUR LES PROPRIETES BIOLOGIQUES DES POPULATIONS D'ALGUES: IMPLICATIONS POUR LA MODELISATION.	160
 III. PERSPECTIVES	 162

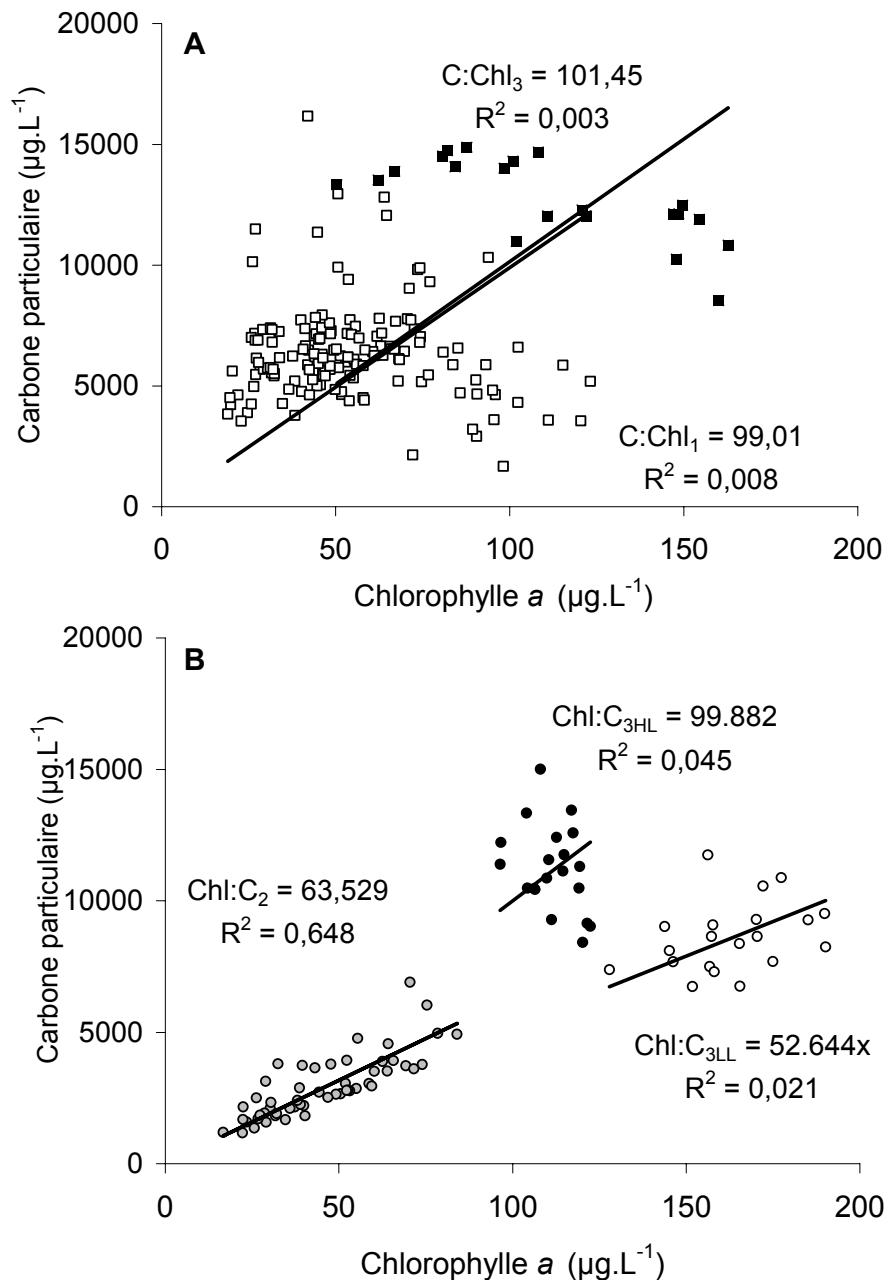
I. Rappel du contexte de cette étude.

En raison du rôle que joue le phytoplancton au sein des réseaux trophiques et dans la séquestration du CO₂ atmosphérique, la compréhension des facteurs qui conditionnent la production primaire est un enjeu actuel de l'océanographie contemporaine. En parallèle, l'essor des moyens de calcul a permis le développement de nombreux modèles destinés à décrire théoriquement le fonctionnement des écosystèmes marins notamment dans la perspective de changements climatiques liés à l'effet de serre. Si l'on a assisté ces dernières décennies à une production importante de modèles de croissance du phytoplancton, l'étude des processus qui affectent la photoadaptation est restée tributaire de mesures ponctuelles réalisées lors des campagnes océanographiques et d'expériences sur des cultures à l'état stable en laboratoire. Bien que très éloignées des conditions de croissance que rencontre le phytoplancton dans le milieu marin, ces expériences constituent généralement la base nécessaire au développement et à la validation de modèles destinés à représenter la dynamique d'adaptation du phytoplancton à la variabilité des conditions rencontrées dans le milieu marin. De même de nombreux modèles notamment ceux qui décrivent des écosystèmes, utilisent des représentations très simplifiées de la croissance du phytoplancton et peuvent faire intervenir un rapport constant entre la chlorophylle et le carbone pour estimer la biomasse. Ce travail s'est donc intéressé à la validité de ces différentes approches couramment employées en modélisation et dont nous allons discuter ici la validité.

II. Faits expérimentaux marquants et leurs conséquences pour la modélisation de la production primaire.

II.1. Variations du rapport carbone sur chlorophylle

La chlorophylle *a* est souvent assimilée à un descripteur de l'abondance phytoplanctonique. Cependant, les modèles biogéochimiques et de réseaux trophiques expriment



□ Expérience 1: lumière constante

■ Expérience 3: lumière constante

○ Expérience 2: mouvements convectifs

○ Expérience 3: cycles LL

● Expérience 3: cycles HL

Figures IX-1a et b: Absence de rapport constant entre carbone et chlorophylle *a*. Ces couples proviennent des mesures réalisées lors des différentes expériences. Ils ont été acquis dans une vaste gamme de conditions de croissance.

a) Couples carbone/chlorophylle obtenus sous différents régimes lumineux.

b) Couples obtenus en régimes lumineux cycliques ou apériodiques. Pour l'expérience 3, il y a deux niveaux moyens de régimes lumineux, LL (faible éclaircissement), HL (fort).

généralement la biomasse en quantité d'azote ou de carbone et il est souvent nécessaire de convertir des mesures de chlorophylle (notamment celles issues de mesures satellitaires de couleur de l'eau) en carbone. L'idée d'un rapport constant entre chlorophylle et production, qui remonte aux travaux de Ryther et Yentsch en 1957, a été depuis longtemps réfutée par de nombreuses études qui ont pu démontrer la faible corrélation entre éclaircissement et production (par exemple Platt *et al.*, 1991 ; Marañón & Holligan, 1999). Ce rapport est en effet une fonction de l'éclaircissement, de la température et de la disponibilité en nutriment. Cependant, malgré la forte variabilité de ce rapport selon l'environnement, il n'est pas rare de rencontrer des modèles où cette grandeur est constante. Il s'agit notamment de modèles d'écosystème, dont certains constituent des références pour la communauté scientifique (par exemple Fasham *et al.*, 1990).

Les expériences réalisées lors de cette étude ont imposé au phytoplancton des conditions de croissance très variées. Si l'on représente l'ensemble des couples chlorophylle et carbone obtenus pour toutes les expériences (figures IX-1a et 1b), on remarque clairement l'absence de corrélation entre la chlorophylle et le carbone à une exception près, le cas où le substrat n'est pas limitant et où la corrélation entre carbone et chlorophylle est très élevée.

Hormis ce cas, pour une concentration en chlorophylle donnée, les concentrations en carbone "équivalent" peuvent être très différentes (de plusieurs ordres de magnitude entre deux mesures). Les rapports carbone sur chlorophylle oscillent ici entre 17 et 425 $\mu\text{g C} \cdot \mu\text{g Chl}^{-1}$. Une telle variation rend impossible l'utilisation fiable d'un rapport C:Chl constant pour estimer le carbone à partir de la chlorophylle sans tenir compte des facteurs qui modulent ce rapport. La production primaire constituant la base des modèles d'écosystèmes, il est évident qu'une mauvaise estimation de la biomasse phytoplanctonique implique dans ces modèles des biais dans les niveaux supérieurs d'un réseau trophique. Taylor *et al.* (1997) ont pu montré que l'usage d'un rapport constant dans le cas d'un modèle 1D aboutit à une situation où les profils verticaux de la chlorophylle et de carbone particulière sont mal représentés notamment le pic de chlorophylle de sub-surface. Ces auteurs soulignent également qu'à l'échelle globale, les hautes latitudes présentent des rapports carbones sur chlorophylle saisonniers peu variables en comparaison avec la variabilité observée pour les basses latitudes. De ce fait, il est difficile de dire si l'estimation des flux de carbone dans l'océan est biaisée dans la mesure où les régions de hautes latitudes séquestrent fortement le CO_2 mais occupent une surface faible en comparaison avec les régions de basses latitudes.

Ces problèmes ont conduit à l'apparition de modèles empiriques de photoadaptation (par exemple, Cloern *et al.*, 1996; Behrenfeld & Falkowski, 1997) qui permettent, sur la base d'informations recueillies sur un grand nombre de références de la littérature, d'estimer le rapport chlorophylle sur carbone en fonction de l'irradiance journalière, de la disponibilité en sels nutritifs et de la température. Cette approche est un compromis simple entre l'utilisation d'un rapport constant et l'intégration d'un véritable modèle de croissance au sein d'un écosystème. Cependant, cette approche est probablement limitée par le fait que la photoadaptation est plus complexe qu'une simple réponse à différents niveaux de limitations. En effet, s'il est admis que la concentration en chlorophylle diminue aux fortes intensités lumineuses, les expériences en lumières cycliques ou apériodiques ont montré que cette relation n'est pas valable à court terme (i.e. la chlorophylle augmente durant la journée y compris lorsque l'intensité lumineuse augmente) mais se vérifie à l'échelle de plusieurs jours.

Les figures IX-1a et 1b montrent que la variabilité des données est moins forte en régimes cycliques ou apériodiques alors que les intensités lumineuses sont égales ou supérieures à celles imposées pour les cultures à l'équilibre. Au cours d'une journée, la réponse photadaptative des algues est par conséquent moins forte que celle qu'on attendrait si la photoadaptation était une simple réponse instantanée au flux de photons. De ce fait, un modèle empirique ne peut être employé pour traduire les variations diurnes d'intensités lumineuses et ce type de représentation n'est donc utilisable que pour des modèles qui n'intègrent pas les variations journalières de l'intensité lumineuse. Selon Flynn (2003a), ces modèles sont limités pour de nombreux scénarios notamment en raison d'incertitudes sur la physiologie des cellules. Ces modèles, s'ils sont une amélioration sensible par rapport à l'usage d'un rapport C:Chl constant, présentent néanmoins le défaut de fournir un rapport sur la base d'une relation statistique et non sur la base d'hypothèses biologiques comme peut le faire un modèle de croissance tel que BioLOV.

Par conséquent, les modèles de croissance du phytoplancton sont probablement plus à même de représenter la photoadaptation à différentes échelles temporelles. Les rapports chlorophylle sur carbone estimés d'après les sorties de BioLOV se sont révélés globalement satisfaisant à l'équilibre mais également en régimes lumineux cycliques notamment à l'échelle journalière. Toutes ces observations et simulations plaident donc en faveur de l'utilisation de modèles de croissance où le quota en chlorophylle est une sortie de ces modèles plutôt que le

recours à des rapports constants ou des relations empiriques.

II.2. Niveau de complexité de BioLOV.

La recherche d'un compromis entre simplicité de la formulation et réalisme des sorties est une question récurrente lors du développement de modèle (Flynn, 2003b; Arhonditsis & Brett, 2004). Augmenter la complexité d'un modèle permet de disposer d'une structure plus fine au prix cependant d'un nombre croissant de paramètres. Cette augmentation tend à rendre difficile l'identification et impose souvent le recours à des paramètres issus de la littérature ce qui entache les simulations d'incertitudes, qui, associées au degré de sophistication du modèle peuvent dans certains cas rendre impossible l'interprétation de résultats (Nihoul, 1998). La philosophie du développement de BioLOV a été de privilégier une formulation simple permettant d'obtenir un ensemble mathématique dont le comportement a été validé par rapport aux observations, qui dispose de méthodes d'identification simple et qui est intégrable dans des ensembles plus importants.

Les mauvais résultats obtenus en régimes lumineux cycliques et apériodiques ont néanmoins montré que la formulation de BioLOV est insuffisante pour représenter correctement la dynamique de la biomasse dans un contexte de variations journalières de l'intensité lumineuse. En effet, nous avons vu que l'absorption du nitrate est liée à la présence de lumière et à la synchronisation de la population. Nous avons également vu que la synthèse des pigments est probablement mal représentée en régime cyclique. BioLOV a été validé pour l'équilibre mais ces faiblesses l'invalident pour un régime lumineux cyclique ou apériodique. Bien qu'on soit tenté de vouloir corriger la formulation du modèle, on peut se poser la question de la nécessité d'une telle entreprise dans la mesure où de nombreux modèles biogéochimiques n'intègrent pas le cycle journalier, et, selon différents auteurs (Evans & Garcon, 1997 ; Flynn & Fasham, 2003), l'inclusion de cycles lumineux complique inutilement les modèles saisonniers.

Ces modèles biogéochimiques considèrent souvent la production primaire intégrée à

l'échelle journalière mais aussi sur la profondeur (Evans & Parslow, 1985 ; Platt *et al.*, 1990). Cette approche est réductrice car à l'échelle d'une journée ou à l'échelle verticale, les apports lumineux varient et par conséquent la photoadaptation n'est prise en compte que de façon moyenne sur la colonne d'eau et à l'échelle de la journée. Cette approche induit vraisemblablement des incertitudes dans l'estimation de la production primaire. Différents auteurs (Woods & Onken, 1982; Barkmann & Woods, 1996) ont montré que le fait d'intégrer des équations basées sur des caractères moyens de la population produit des simulations moins précises que dans le cas où une moyenne serait réalisée sur un ensemble de sorties de modèle représentant chacune une population particulière de la colonne d'eau. Ces faits plaident en faveur d'une modélisation *lagrangienne* de la production primaire par rapport à l'approche *eulérienne* couramment employée pour décrire la production dans la colonne d'eau. BioLOV est adapté à la fois pour ces deux représentations car il est suffisamment simple pour être intégré dans un compartiment de la colonne d'eau ou couplé à des trajectoires dans la colonne d'eau. Pour l'instant, BioLOV a essentiellement été testé dans un cadre lagrangien mais des premiers essais de couplage à une structure 1D (Pawlowski, *données non publiées*) ont montré la faisabilité d'une telle approche.

BioLOV présente un niveau de complexité suffisant pour reproduire la réponse photoadaptative tout en conservant une formulation relativement simple. Aucun processus n'apparaît comme superflu en regard des hypothèses qui ont été établies. Par cette simplicité, BioLOV reste intégrable et surtout identifiable facilement à partir de grandeurs (azote et carbone particulaire, nitrate, chlorophylle) mesurées en mer.

II.3. La validation de modèles à l'équilibre aboutit-elle à des simulations fiables dans le cadre d'environnements fluctuants ?

Les différentes expériences réalisées lors de ce travail ont fourni un ensemble de données qui ont permis de tester BioLOV dans des conditions de croissance très variées. Ce modèle, validé à l'équilibre, est capable de reproduire l'évolution de la biomasse en régime lumineux apériodique où la croissance n'est pas limitée par le substrat. En revanche, les

simulations sont décevantes en régime lumineux cyclique sous conditions de limitation par le nitrate. De ce fait, le problème ne se cantonne pas uniquement à une question d'identification car ces résultats suggèrent que la capacité du modèle à représenter la biomasse est *a priori* imprévisible en dehors de la situation d'équilibre. Les résultats du chapitre VII ont montré que des paramètres clés comme ceux du taux de photosynthèse varient fortement selon que l'on soit en régime lumineux cyclique ou constant ce qui rend caduque l'approche couramment pratiquée, qui consiste à utiliser des modèles validés à l'équilibre avec des forçages dynamiques.

En fait, le problème ne se limite pas à la validité de l'identification à l'équilibre, mais plutôt à l'usage de modèles en dehors de leur cadre d'identification. En effet, les résultats montrent qu'en dehors du cadre qui a servi à l'identification des paramètres, la validité du modèle devient hasardeuse. Ce problème est amplifié par le fait qu'outre la variation des paramètres en fonction des conditions du milieu en réponse à des adaptations physiologiques des algues, certains processus peuvent différer suffisamment d'un état à l'autre pour nécessiter une reformulation du modèle. A cet égard, nous avons dû rendre la formulation du substrat dépendante de l'intensité lumineuse dans le cas des régimes apériodiques. Il s'est avéré ensuite que cette formulation n'était plus valable pour le régime cyclique où la croissance était alors également limitée par le substrat. Ce problème était d'autant plus singulier que la reformulation de BioLOV ne nécessitait pas une nouvelle paramétrisation de ses paramètres. Ceci suggère que les caractéristiques des algues n'étaient pas fondamentalement différentes de celles observées à l'équilibre dans le cas du régime apériodique. En revanche, la division cellulaire marquée par la forte synchronisation des cellules, interférait avec l'absorption nocturne du nitrate.

Dans ce contexte, il est risqué de réaliser une simulation de la croissance phytoplanctonique sur une période suffisamment longue pour que les caractéristiques de la colonne d'eau puissent changer significativement sans tenir compte de ces changements en adaptant les paramètres ou la formulation du modèle selon les saisons.

Ces expériences donnent un sens très relatif à la validation. La littérature comporte de nombreuses références concernant des présentations de modèles qui se terminent généralement par une confrontation de simulations à des données. La plupart du temps, cette "validation" est très subjective car les simulations publiées sont celles qui reproduisent correctement les observations. En effet, il s'agit généralement de prouver qu'un modèle est

"bon" car il s'ajuste correctement à un jeu de données. Nos résultats suggèrent qu'un modèle qui s'ajuste à un jeu de données n'est garant en rien de sa capacité à représenter les observations dans un autre contexte environnemental. Cette idée a également été proposée par d'autres auteurs (Doney *et al.*, 2002). Il est dommage de constater que la littérature comporte peu d'information sur des modèles invalidés alors qu'il serait plus utile pour la communauté scientifique de disposer d'informations sur les facteurs qui ont entraîné l'invalidation d'un modèle. Par exemple, les mauvaises simulations de BioLOV en régimes lumineux cycliques et apériodiques ont fourni de nombreuses informations sur la photoadaptation et l'absorption du substrat, informations qui serviront de base pour améliorer le modèle. Selon Rykiel (1996), la "peur" de produire des structures invalidées constitue souvent un frein pour le développement d'une modélisation pertinente en écologie.

Les inadéquations observées entre BioLOV et les observations suggèrent que les efforts, lors du développement d'un modèle, devraient plutôt porter sur l'identification des domaines de validité d'un modèle. Pour cela, les expériences conduites avec un simulateur d'environnement marin constituent des bases précieuses car elles permettent de tester un modèle dans un large éventail de situations.

II.4. Influence de cycles lumineux sur les propriétés biologiques des populations d'algues: implications pour la modélisation.

Les inadéquations entre BioLOV et les observations sont liées à la différence de régimes lumineux entre les cultures à l'équilibre et celles réalisées sous lumière variable. Lorsque le flux de photons journalier est variable, il apparaît des phénomènes qui étaient jusqu'alors occultés par le régime lumineux continu.

En effet, il apparaît que la photoadaptation ne peut plus s'envisager comme une simple régulation de la quantité de chlorophylle en fonction de la lumière instantanée dans la mesure où celle-ci évolue en permanence. Le fait de travailler sous cycles lumineux met en avant une certaine latence dans la photoadaptation qui aboutit à des faits paradoxaux, par exemple des

phases où la chlorophylle augmente avec l'intensité lumineuse. BioLOV est en partie capable de reproduire ce phénomène selon l'amplitude du cycle lumineux. Dans d'autres cas, il apparaît en déphasage avec les observations de chlorophylle. Jusqu'à présent, le fait de concevoir des modèles sous régimes lumineux constants a occulté la cinétique de la photoadaptation. L'expérimentation sous lumière constante a conduit à considérer uniquement la réponse photoadaptative sur plusieurs jours. Le développement de cultures sous régime périodique devrait permettre de développer des modèles où la cinétique à court terme de la photoadaptation sera correctement représentée. Néanmoins, cette approche ne sera possible qu'en développant des méthodes d'identification en régime lumineux variables et en réalisant un échantillonnage accru lors des expériences. En effet, si l'on peut estimer un équilibre sur la moyenne de quelques mesures, dans le cas de l'étude des processus photoadaptatifs à des échelles journalières, il sera nécessaire de connaître de façon plus précise les variations journalières des différents descripteurs de la biomasse.

Un autre fait apparu en régime apériodique est la dépendance de certains processus à une exposition préalable à la lumière. Réaliser des expériences en régimes lumineux cycliques quotidiens occulte ce type d'observations car le signal est rigoureusement le même jour après jour et par conséquent, la réponse des algues se répète. En "cassant" les cycles lumineux, nous avons pu mettre en évidence que l'absorption du nitrate était dépendante d'une exposition préalable au flux de photons. De ce fait, ce type d'observation plaide en faveur d'une représentation différente de la lumière dans les modèles, non pas en terme d'intensité lumineuse instantanée mais en terme de doses de photons reçues durant une période donnée.

Mais le processus le plus contraignant en régime lumineux variable, pour les modélisateurs, est sans doute la synchronisation des cellules. Nous avons vu que la division cellulaire au sein d'une population très synchronisée a un effet significatif sur l'absorption nocturne du nitrate et par propagation sur la synthèse des pigments et la fixation du carbone issue de la photosynthèse. Ne pas tenir compte de ce phénomène dans la représentation de l'absorption conduit à des biais significatifs dans les estimations de la production primaire. Le problème qui se pose ici, est de représenter simplement la division cellulaire et le degré de synchronisation de la population. La division cellulaire est un événement ponctuel à l'échelle journalière et qui dépend de nombreux facteurs dont le contrôle endogène circadien. Intégrer ce phénomène discret dans modèle de dynamique de biomasse impose soit une complexification importante du modèle soit le recours à des "raccourcis" dans les hypothèses

de BioLOV comme considérer, par exemple, que l'absorption est inhibée à l'obscurité dans le cas où la population est très synchronisée. Il apparaît en tout cas que la division est un processus qui peut être structurant pour la biomasse dans un écosystème. L'expérience en régime convectif montre que l'accumulation du substrat dans le milieu est permise par l'arrêt de l'absorption lors de la division. Le modèle suggère que si la division n'est pas prise en compte, le substrat serait complètement absorbé et la biomasse surestimée par rapport aux observations.

III. Perspectives

Les expériences réalisées lors de ce travail constituent des premiers pas prometteurs dans l'étude expérimentale de la photoadaptation dans des conditions proches de celles rencontrées dans le milieu marin. Pour l'instant, seules les variations de la lumière sont contrôlées par le dispositif mais celui-ci devrait dans un proche avenir être capable de moduler la dilution et donc l'apport en éléments limitants. L'objectif de ce dispositif n'est pas de recréer parfaitement un environnement marin, mais de reproduire les ordres de grandeurs des variations des paramètres physico-chimiques observés en mer afin d'améliorer l'étude des processus liés à la croissance du phytoplancton.

Parmi ces processus, certains sont encore modélisés très simplement dans BioLOV notamment les taux de dégradation des pigments et la respiration. Selon Geider (1992), la respiration est un phénomène dont la représentation est généralement négligée dans les modèles alors que celle-ci évolue avec le taux de croissance. Différents auteurs ont également suggéré ou montré que la dégradation des pigments n'est pas un processus constant (e.g. Goericke & Welshmeyer, 1992a, 1992b; Le Floch, 2002). Par conséquent, les efforts immédiats sur BioLOV peuvent concerner l'étude et l'intégration éventuelle de la variabilité de ces facteurs. D'autres efforts pourront porter également sur une représentation des fluctuations du rendement quantique et de l'absorption spécifique de la chlorophylle. Ces grandeurs sont implicitement considérées comme constantes alors qu'elles sont variables (Cullen, 1992; Bruyant *et al.*, 2001).

Mais cette expérience a aussi laissé entrevoir une nouvelle forme de modélisation de la croissance du phytoplancton qui ne dépendrait pas de l'intensité lumineuse instantanée mais de la quantité de lumière reçue au cours d'une journée par les cellules. En effet, ces expériences ont mis en évidence la nécessité d'une exposition préalable à la lumière des cellules pour permettre l'absorption du nitrate et les relations mises en évidence dans le chapitre VII montrent qu'il y a une relation entre la quantité de carbone par cellule, le rapport carbone sur chlorophylle et la dose de photons reçues à une certaine heure de la journée et depuis le début du cycle journalier. Les océanographes raisonnent depuis longtemps en terme d'intensité instantanée, et les expériences sont généralement réalisées sous lumière constante. Cette "tradition" est un peu paradoxale lorsque l'on étudie la croissance, car cela revient à considérer la lumière comme un simple facteur physique au même titre que la température. Ce facteur va agir sur la cinétique du métabolisme cellulaire alors qu'en fin de compte, la lumière fournit de l'énergie à la cellule pour des réactions qui vont aboutir par exemple à l'accumulation d'un pouvoir réducteur pour l'absorption du nitrate. La lumière devrait probablement plutôt être considérée comme une sorte de substrat au même titre que le nitrate, mais qui ne serait pas prélevé dans le milieu (elle est toutefois atténuée par auto-ombrage). S'il est évident que l'intensité instantanée joue un rôle sur la photosynthèse, la dose de photon reçue prend en compte la quantité de photons reçue préalablement ce qui peut contribuer à modéliser plus facilement les adaptations progressives des cellules aux conditions de lumière. L'avantage d'une telle approche, est de faciliter le développement de modèles dont les paramètres seraient alors indépendants de la nature du signal lumineux.

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons concilié une démarche de modélisation et une approche expérimentale autour de la colimitation azote/lumière sur la croissance du phytoplancton.

Un des objectifs était de tester la validité de modèles identifiés à l'équilibre dans des conditions de forçages variables. La comparaison des sorties de BioLOV avec les mesures a montré qu'il était par conséquent préférable de réaliser des expériences avec des forçages très variés de façon à essayer d'identifier le domaine de validité du modèle. Nous avons également montré que la paramétrisation et l'écriture d'un modèle doivent être réexaminés lorsque le cadre d'exploitation de ce dernier (les variables forçantes) changent. Ceci ne plaide donc pas pour une représentation générique du processus de photoadaptation.

Le second objectif était d'étudier la photoadaptation et la croissance du phytoplancton sous diverses conditions d'éclairement et de limitation par le nitrate. Nous avons démontré l'existence d'un contrôle endogène circadien de la division cellulaire chez *Thalassiosira weissflogii* qui ne semble en revanche pas intervenir dans la régulation de la photoadaptation. Celle-ci est en effet très dépendante de la dose de photons reçue au cours de la journée. L'absorption de nitrate, notamment nocturne, est également sensible à l'exposition lumineuse reçue par les cellules au cours des précédentes 48 heures, et peut être inhibée par la division cellulaire si le forçage lumineux induit par les conditions hydrodynamiques conduit à la synchronisation des populations.

Ces propriétés ont pu être mises en évidence grâce à des expériences contrôlées par un dispositif de culture innovant. L'étude de la croissance phytoplanctonique dans des conditions de limitations variables est encore très loin d'être généralisée mais ces premiers résultats démontrent l'intérêt de ce type d'expériences pour la validation de modèles à vocation biogéochimique.

Références bibliographiques

- Agawin, N.S.R., Duarte, C.M., Agusti, S. (2000). Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol. Oceanogr.*, **45**: 591-600.
- Al-Qutob, M., Häse, C., Tilzer, M.M., Lazar B. (2002). Phytoplankton drives nitrite dynamics in the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **239**: 233-239.
- Aldredge, A.L., Gotschalk, C., Passow, U., Riebesell, U. (1993). Mass aggregation of diatom blooms: insights from a mesocosm study. *Deep-Sea Res. II*, **42**: 9-27.
- Antoine, D., André, J.M., Morel, A. (1996). Oceanic primary production: II. Estimation at global scale from satellite (Coastal Zone Color Scanner) chlorophyll. *Global Biogeochem. Cy.*, **10**: 57-69.
- Arhonditsis, G.B., Brett, M.T. (2004). Evaluation of the current state of mechanistic aquatic biogeochemical modeling. *Mar. Eco. Progr. Ser.*, **271**: 13-26.
- Babin, M., Theriault, J-C, Legendre, L., Nieke, B., Reuter, R., Condal, A. (1995). Nitrogen- and irradiance-dependant variations of the maximum quantum yield of carbon fixation in eutrophic, mesotrophic and oligotrophic marine systems. *Deep-Sea Res.*, **43**: 1241-1272.
- Barkmann, W., Woods, J.D. (1996). On using a Lagrangian model to calibrate primary production determined from *in vitro* incubation measurements. *J. Plankton Res.*, **18**, 767-788.
- Bates, S. (1976). Effects of light and ammonium on nitrate uptake by two species of estuarine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **21**: 212-218.
- Behrenfeld, M.J., Falkowski, P.G., (1997). Photosynthetic rates derived from satellite-based chlorophyll concentration. *Limnol. Oceanogr.* **42**: 1-20.
- Behrenfeld, M.J., Marañon, E., Siegel, A., Hooker, S.B. (2002). Photoacclimation and nutrient-based model of light-saturated photosynthesis for quantifying primary production. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **228**: 103-107.
- Benshneider, K., Robinson, R.J. (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.*, **11**: 87-96.
- Bernard, O. (1995). Etude expérimentale et théorique de la croissance de *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae soumise à une limitation variable de nitrate) – utilisation de la dynamique transitoire pour la conception et la validation des modèles. Thèse de l'université Pierre et Marie Curie, Paris VI. 183 pages.
- Bertolo, A., Lacroix, G., Lescher-Moutoue, F., Cardinal-Legrand, C. (2000). Plankton dynamics in planktivore and piscivore-dominated mesocosms. *Arch. Hydrobiol.*, **147**: 327-349.
- Brand, L.E., (1982) . Persistent Diel Rhythms in the Chlorophyll Fluorescence of Marine Phytoplankton Species. *Mar. Biol.* **69**: 253-262.
- Bricaud, A., Bédhomme, A.-L., Morel, A. (1988). Optical properties of diverse phytoplanktonic species : experimental results and theoretical interpretation. *J. Plankton. Res.*, **10**: 851-873.
- Bruyant, F., Babin, M., Sciandra, A., Marie, D., Genty, B., Claustre, H., Blanchot, J., Bricaud, A., Rippka, R., Boulben, S., Louis, F., Partensky, F. (2001). An axenic cyclostat of *Prochlorococcus* PCC9511 with a simulator of natural light regimes. *J. Appl. Phycol.*, **13**: 135-142.
- Burmester, D.E. (1979). The unsteady continuous culture of phosphate-limited *Monochrysis lutheri* Droop : experimental and theoretical analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **39**: 167-186.
- Caperon, J. (1968). Population growth in micro-organisms limited by food supply. *Ecology*, **49**: 715-721.
- Caperon, J., Meyer, J. (1972). Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton. II. Uptake kinetics and their role in nutrient-limited growth of phytoplankton. *Deep-Sea Res.*, **19**: 619-632.

- Chalup, M.S., Laws, E.A. (1990). A test of the assumptions and predictions of recent microalgal growth models with the marine phytoplankter *Pavlova lutheri*. *Limnol. Oceanogr.*, **35**: 583-596.
- Chen, C.Y., Durbin, E.G. (1994). Effects of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **109**: 83-94.
- Chisholm, S.W., Brand, L.E. (1981). Persistence of cell division phasing in marine phytoplankton in continuous light after entrainment to light:dark cycle. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **51**: 107-118.
- Chisholm, S.W., Costello, J.C. (1980). Influence of environmental factors and population composition of *Thalassiosira fluviatilis* (bacillariophyceae) grown on light/dark cycles. *J. Phycol.*, **16**: 375-383.
- Chisholm, S.W., Vault, D., Olson, R.J. (1984). Cell cycle clocks. In Edmunds, L.N. (ed.) *Cell cycle clocks*. Marcel Dekker, New York. pp365-394.
- Cloern, J.E. (1977). Effects of light intensity and temperature on *cryptomonas ovata* (cryptophyceae) growth and nutrient uptake rates. *J. Phycol.*, **13**: 389-395.
- Cloern, J.E., Grenz, C., Videgar-Lucas, L. (1995). An empirical model of the phytoplankton chlorophyll / carbon ratio - the conversion factor between productivity and growth. *Limnol. Oceanogr.*, **40**: 1313-1321.
- Cochlan, W.P., Harrison, P.J., Denman, K.L. (1991a). Diel periodicity of nitrogen uptake by marine phytoplankton in nitrate-rich environments. *Limnol. Oceanogr.*, **36**: 1689-1700.
- Cochlan, W.P., Price, N.M., Harrison, P.J. (1991b). Effects of irradiance on nitrogen uptake by phytoplankton: comparison of frontal and stratified communities. *Mar. Biol. Progr. Ser.*, **69**: 103-116.
- Collos, Y. (1998). Nitrate uptake, nitrite release and uptake, and new production estimates. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **171**: 293-301.
- Corzo, A., Morillo, J.A., Rodriguez, S. (2000). Production of transparent exopolymer particles (TEP) in cultures of *Chaetoceros calcitrans* under nitrogen limitation. *Aquatic Marine Ecology*, **23**: 63-72.
- Cullen, J.J. (1992). On models of growth and photosynthesis in phytoplankton. *Deep Sea Res.*, **37**: 667-683.
- Cullen, J.J., Lewis, M.R. (1988). The kinetics of photoadaptation in the context of vertical mixing. *J. Plankton Res.*, **10**: 1039-1063.
- Davidson, K., Wood, G., John, E.H., Flynn, K.J. (1999). An investigation of non-steady-state algal growth. I. An experimental model ecosystem. *J. Plankton Res.*, **21**: 811-837.
- Droop, M.R. (1968). Vitamin B12 and marine ecology. IV. The kinetics of uptake growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **48**: 689-733.
- Droop, M.R. (1974). The nutrient status of algal cells in continuous culture. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **54**: 825-855.
- Doney, S.C., Kleypas, J.A., Sarmiento, J.L., Falkowski, P.G. (2002). The US JGOFS synthesis and modeling project—an introduction. *Deep-Sea Res. II*, **49**:1-20.
- Dore, J.E., Karl, D.M. (1996). Nitrification in the euphotic zone as a source for nitrite, nitrate and nitrous oxide at station ALOHA. *Limnol. Oceanogr.*, **41**: 1619-1628.
- Doty, M.S., Oguri, M. (1957). Evidence for a photosynthetic daily periodicity. *Limnol. Oceanogr.*, **2**:37-40.
- Dugdale, R.C. (1967). Nutrient limitation in the sea : Dynamics, identification and significance. *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 685-695.
- Duysens, L.M. (1956). The flattening of the absorption spectra of suspensions as compared to that of solutions. *Biochim. Biophys. Acta*, **19**: 1-12.

- Engel, A. (2004). Distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in the northeast Atlantic Ocean and their potential significance for aggregation processes. *Deep-Sea Res. I*, **51**: 83–92.
- Engel, A., Goldthwait S., Passow, U., Alldredge, A. (2002). Temporal decoupling of carbon and nitrogen dynamics in a mesocosm diatom bloom. *Limnol. Oceanogr.*, **47**: 753–761.
- Eppley, R.W., McCarthy, J.J. (1969). Half-saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **14**: 912-919.
- Eppley, R.W., Strickland, J.D.H. (1968). Kinetics of marine plankton growth. *In*: Droop, M.R., Ferguson, E.J. (eds). *Advances in microbiology of the sea*, Vol I. Academic Press, London and New York, pp. 23-63.
- Eppley, R.W., Renger E.H. (1974). Nitrogen assimilation of an oceanic diatom in nitrogen-limited continuous culture. *J. Phycol.*, **10**: 15-23.
- Eppley R.W., Rogers J.N., McCarthy J.J., Sournia A. (1971). Light/dark periodicity in nitrogen assimilation of the marine phytoplankters *Skeletonema costatum* and *Coccolithus huxleyi* in N-limited chemostat culture. *J. Phycol.*, **7**: 150-154.
- Escaravage, V., Prins, T.C., Smaal, A.C, Peeters, J.C.H. (1996). The response of phytoplankton communities to phosphorus input reduction in mesocosm experiments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **198**: 55-79.
- Evans, G.T., Parslow, J.S. (1985). A model of annual plankton cycles. *Biol. Oceanogr.*, **3**: 328-347.
- Evans, G.T., Garcon, V. (1997). *One dimensional models of water column chemistry*. JGOFS report 23/97. JGOFS, Bergen, Norvège.
- Eveillard, D. (2000). Modélisation de l'effet de la limitation conjuguée de la lumière et de l'azote sur la croissance autotrophe. DEA. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI. 30p.
- Falkowski, P.G. (1975a). Nitrate uptake in marine phytoplankton: (nitrate, chloride)-activated adenosine triphosphatase from *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, **11**: 323-236.
- Falkowski, P.G. (1975b). Nitrate uptake in marine phytoplankton: comparison of half-saturation constants from seven species. *Limnol. Oceanogr.*, **20**: 412-417.
- Falkowski, P.G. (1983). Light-shade adaptation and vertical mixing of phytoplankton: a comparative field study. *J. Mar. Res.*, **41**: 215-237.
- Falkowski, P.G., Barber, R.T., Smetacek, V. (1998). Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, **281**: 200-206.
- Falkowski, P.G., Owens, T.G. (1980). Light-shade adaptation: two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.*, **66**: 592-595.
- Falkowski, P.G., Wirick, C.D. (1981). A simulation model of the effects of vertical mixing on primary productivity. *Mar. Biol.*, **65**: 69-75.
- Falkowski, P.G, Raven J.A. (1987). *Aquatic photosynthesis*. Blackwell science. 375p.
- Farmer, D., McNeil, C. (1999). Photoadaptation in a convective layer. *Deep-Sea Res. II*, **46**: 2433-2446.
- Fauchot, J., Gosselin, M., Levasseur, M., Mostajir, B., Belzile, C., Demers, S., Roy, S., Villegas, P.Z. (2000). Influence of UV-B radiation on nitrogen utilization by a natural assemblage of phytoplankton. *J. Phycol.*, **36**: 484-496.
- Flynn, K.J (2001). A mechanistic model for describing dynamic multi-nutrient, light, temperature interactions in phytoplankton. *J. Plankton. Res.*, **23**: 977-997.

- Flynn, K.J. (2003a). Do we need complex mechanistic photoacclimation models for phytoplankton ? *Limnol. Oceanogr.*, **48**: 2243-2249.
- Flynn, K.J. (2003b). Modelling multi-nutrient interactions in phytoplankton; balancing simplicity and realism. *Progr. Oceanogr.*, **56**: 249-279.
- Flynn, K.J., Fasham, M.J.R. (2003). Operation of light-dark cycles within simple ecosystem models of primary production and the consequences of using phytoplankton models with different abilities to assimilate N in darkness. *J. Plankton Res.*, **25**: 83-92.
- Forster, R.M.; Schubert, H. (2001). The effects of ultraviolet radiation on the planktonic community of a shallow, eutrophic estuary: Results of mesocosm experiments. *Helgol. Mar. Res.*, **55**: 23-34.
- Fryxell, G.A., Hasle G.R. (1979). The genus *Thalassiosira*: species with internal extensions of the strutted processes. *Phycologia*, **18**: 378-393.
- Fujimoto, Y., Iwamoto H., Kato, A., Yamada, K. (1956). Studies on the growth rate of *Chlorella* by continuous cultivation. *Bull. agric. chem. soc. Japan*, **20**: 13-18.
- Gallegos, C.L., Platt, T. (1982). Phytoplankton production and water motion in surface mixed layers. *Deep-Sea Res.*, **29**: 65-76.
- Gammon, R.H., Komhyr, W.D., Peterson, J.T. (1986). The Global Atmospheric CO₂ Distribution 1968-1983: Interpretation of the results of the NOAA/GMCC measurement program. In *The Changing Carbon Cycle: A Global Analysis*, J.R. Trabalka and D.E. Reichle (eds.), Springer-Verlag, New York, 1-15 (1986)
- Geider, R.J. (1987). Light and temperature dependance of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and cyanobacteria: implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytol.*, **106**: 1-34.
- Geider, R.J (1992). Respiration: taxation without representation. In P. G. Falkowski and A. D. Woodhead [eds.], *Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea*. Plenum. pp 333-360
- Geider, R.J., MacIntyre, H.L., Kana, T.M. (1996). A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **41**: 1-15.
- Geider, R.J., MacIntyre, H.L., Kana, T.M. (1998). A dynamic regulatory model of phytoplanktonic acclimation to light, nutrients, and temperature. *Limnol. Oceanogr.*, **43**: 679-694.
- Goericke, R., Welschmeyer, N.A., 1992. Pigment turnover in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. I. The ¹⁴CO₂-labeling kinetics of chlorophyll a. *J. Phycol.*, **28**: 498-507.
- Goericke, R., Welschmeyer, N.A., 1992. Pigment turnover in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. II. The ¹⁴CO₂-labeling kinetics of carotenoids. *J. Phycol.*, **28**: 507-517.
- Goldman, J.C. (1980). Physiological processes, nutrient availability, and the concept of relative growth rate in marine phytoplankton ecology. In *Primary productivity in the sea. Brookhaven Symp. Biol.* **31**. Plenum.
- Goldman, J.C., Glibert, P.M (1983). Kinetics of inorganic nitrogen uptake by phytoplankton. In: *Nitrogen in the marine environment*. Academic press eds. 233-274.
- Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: W.L. Smith and M.H. Chanley. *Culture of marine invertebrate animals*. Plenum Press. New York, 26-60.
- Guillard, R.R.L., Ryther, J.H. (1962). Studies of marine plankton diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Denotula confervacea* Cleve. *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229-239.
- Harris, G.P. (1984). Phytoplankton productivity and growth measurements: past, present and future. *J. Plankton Res.*, **6**: 219-237.

- Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguer, M.P., van der Linden, J., Xiaosu, D. (2001). *IPCC Third Assessment Report. Climate Change 2001: The Scientific Basis*. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). p944.
- Jacobsen, A., Egge, J.K., Heimdal, B.R. (1995). Effects of increased concentration of nitrate and phosphate during a springbloom experiment in mesocosm. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **187**: 239-251.
- Jannasch, H.W. (1974). Steady-state and the chemostat in ecology. *Limnol. Oceanogr.*, **19**: 716-720.
- Janowitz, G.S, Kamykowski, D. (1999). An expanded Eulerian model of phytoplankton environmental response. *Ecol. Model.*, **118**: 237-247.
- Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F. (1975). New spectrophotometric equation for determining chlorophyll a, b, c1 and c2. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, **167**: 194-204.
- Kamykowski, D. (1995). Trajectories of autotrophic marine dinoflagellates. *J. Phycol.*, **31**: 200-208.
- Kanda, J., Ziemann, D.A., Conquest, L.D., Bienfang, P.K. (1989). Light-dependancy of nitrate uptake by phytoplankton over the spring bloom in Auke Bay, Alaska. *Mar. Biol.*, **103**: 563-569.
- Keller, A.A., Oviatt, C.A., Walker, H.A., Hawk, J.D. (1999). Predicted impacts of elevated temperature on the magnitude of the winter-spring phytoplankton bloom in temperate coastal waters: A mesocosm study. *Limnol. Oceanogr.*, **44**: 344-356.
- Kirk, J.T.O. (1975a). A theoretical analysis of the contribution of algal cells to the attenuation of light within natural waters. I. General treatment of suspensions of pigmented cells. *New Phytol.*, **75**: 11-20.
- Kirk, J.T.O. (1975b). A theoretical analysis of the contribution of algal cells to the attenuation of light within natural waters. II. Spherical cells. *New Phytol.*, **75**: 21-36.
- Kudela, R.M., Cochlan, W.P., Dugdale, R.C. (1997). Carbon and nitrogen uptake response to light by phytoplankton during an upwelling event. *J. Plankton Res.*, **19**: 609-630.
- Kuenzler, E.J., Ketchum, B.H. (1962). Rate of phosphorus uptake by *Phaeodactylum tricornutum*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab.*, **123**: 134-145.
- Lande, R., Lewis, M.R. (1989). Models of photoadaptation and photosynthesis by algal cells in a turbulent mixed layer. *Deep-Sea Res.*, **15**: 141-149.
- Latasa, M. (1995). Pigment composition of *Heterocapsa* sp. and *Thalassiosira weissflogii* growing in batch cultures under different irradiances. *Sci. Mar.*, **59**: 25-37.
- Laws, E.A., Bannister, T.T. (1980). Nutrient- and light-limited growth of *Thalassiosira fluviatilis* in continuous culture, with implications for phytoplankton growth in the ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 457-473.
- Laws, E.A., Wong, D.C.L. (1978). Studies of carbon and nitrogen metabolism by three marine phytoplankton species in nitrate-limited continuous culture. *J. Phycol.*, **14**: 406-416.
- Lawton, J.H. (1996). The Ecotron facility at Silwood Park: The value of "big bottle" experiments. *Ecology*, **77**: 665-669.
- Le Floch, E. (2002). Etude expérimentale des limitations simultanées de l'azote et de la lumière sur la croissance de *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae). Thèse de l'université de la Méditerranée (Aix-Marseille II) – Observatoire des sciences de l'univers. 318 pages.
- Le Floch, E., Malara, G., Sciandra, A. (2002). An automatic device for in vivo absorption spectra acquisition and chlorophyll estimation in phytoplanktonic cultures. *J. Appl. Phycol.*, **14**: 435-444.

- Legendre, L., Demers, S., Garside, C., Haugen, E.M., Phinney, D.A., Shapiro, L.P., Therriault, J.C., Yentsch, C.M. (1988). Circadian photosynthetic activity of natural marine phytoplankton isolated in a tank. *J. Plankton Res.*, **10**:1-6.
- Lewis, M.R., Cullen, J.J., Platt, T. (1984). Relationships between vertical mixing and photoadaptation of phytoplankton: similarity criteria. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **15**: 141-149.
- Losada, M., Guerrero, M.G., Vega, J.M. (1981) The assimilatory reduction of nitrate. In: Bothe H, Trebst A. (eds) *Biology of inorganic nitrogen and sulfur*. Springer-Verlag. Berlin, p30-63.
- MacIsaac J.J., Dugdale R.C. (1972). Interactions of light and inorganic nitrogen in controlling nitrogen uptake in the sea. *Deep-Sea Res.*, **19**: 209-232.
- Malara, G., Sciandra, A. (1991). A multiparameter phytoplankton culture system driven by microcomputer. *J. Appl. Phycol.*, **3**: 235-241.
- Marañón, E., Holligan, P.M. (1999). Photosynthetic parameters of phytoplankton from 50°N to 50°S in the Atlantic Ocean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **176**: 191-203.
- Mari, X., Burd, A. (1998). Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Mar. Ecol. Progr. Series*, **163**: 63–76.
- Marra, J. (1978a). Effects of short-term variations in light intensity on photosynthesis of a marine phytoplankton: a laboratory simulation study. *Mar. Biol.*, **46**: 191-202.
- Marra, J. (1978b). Phytoplankton photosynthetic response to vertical movement in a mixed layer. *Mar. Biol.*, **46**: 203-208.
- Mayer, D.G., Butler, D.G. (1993). Statistical validation. *Ecol. Model.*, **68**: 21-32.
- McGillicuddy, D.J. (1995). One-dimensional numerical simulation of primary production: Lagrangian and Eulerian formulations, *J. Plankton. Res.*, **17**: 405-412.
- Menden-Deuer, S., Lessard, E.L. (2000). Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnol. Oceanogr.*, **45**: 569-579.
- Moal, J., Martin-Jézéquel, V., Harris, R.P., Samain, J.F., Poulet, S. (1987). Interspecific and intraspecific variability of the chemical composition of marine phytoplankton. *Oceanol. Acta*, **10**: 339-346.
- Monod, J. (1942). *Recherches sur la Croissance des Cultures Bactériennes*. Paris.
- Monod, J. (1950). La technique de culture continue – théorie et applications. *Annales de l'Institut Pasteur*, **79**: 390-410.
- Mullin, M.M., Sloan, P.R., Eppley, R.W. (1966). Relationship between carbon content, cell volume, and area in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **11**: 307-311.
- Myers, J., Graham, J. (1971). The photosynthetic unit in *Chlorella* measured by repetitive short flashes. *Plant. Physiol.*, **48**: 282-286.
- Nejstgaard, J.C., Witte, H.J., van der Wal, P., Jacobsen, A. (1994). Copepod grazing during a mesocosm study of an *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) bloom. *Sarsia*, **79**: 369-377.
- Nelder, A.J., Mead, R. (1965). A simplex method for function minimization. *Comp. J.*, **7**: 308-313.
- Nerini, D., Mante, C., Durbec, J.P., Garcia, F. (2001). Une méthode statistique de détermination de séquences caractéristiques dans une série temporelle de plusieurs variables. Application à la physico-chimie des eaux de l'étang de Berre. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la Terre et des Planètes*, **0**: 1-8.

- Novick, A., Szilard, L. (1950). Experiments with chemostats on spontaneous mutation of bacteria. *Proceeding of National Academy of Sciences USA*, **36**: 708-719.
- Olson, R.J., Chisholm, S.W. (1983). Effects of photocycles and periodic ammonium supply on three marine phytoplankton species. I. Cell division patterns. *J. Phycol.*, **19**: 522-528.
- Owens, T.G., Falkowski, P.G., Whiteledge, T.E. (1980). Diel periodicity in cellular chlorophyll content in marine diatoms. *Mar. Biol.*, **59**: 71-77.
- Passow, U. (1991). Species-specific sedimentation and sinking velocities of diatoms. *Mar. Biol.*, **108**: 449-455.
- Pawlowski, L. (2001). Modélisation des effets conjugués Azote-Lumière sur la croissance phytoplanctonique en chémostat : étude qualitative et validation. DEA. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI. 31p.
- Pawlowski, L., Bernard, O., Le Floch, E., Sciandra, A. (2002). Qualitative behaviour of a phytoplankton growth model in photobioreactors. IFAC World Congress. 6p.
- Platt, T., Caverhill, C., Sathyendranath, S. (1991). Basin-scale estimates of oceanic primary production by remote sensing: the North Atlantic. *J. Geophys. Res.*, **96**: 15147-15159.
- Platt, T., Sathyendranath, S., Ulloa, O., Harrison, W.G., Hoepffner, N., Goes, J., (1990). Primary production by phytoplankton: analytic solutions for daily rates per unit area of water surface. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B.*, **242**: 101-111.
- Platt, T., Subba Rao, D.V., Smith, J.C., Li, W.K., Irwin, B., Horne, E.P.W., Sameoto, D.D. (1983). Photosynthetically-competent phytoplankton from the aphotic zone of the deep ocean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **10**: 105-110.
- Post, A.F., Dubinsky, Z., Wyman, K., Falkowski, P.G. (1984). Kinetics of light-intensity adaptation in a marine planktonic diatom. *Mar. Biol.*, **83**: 231-238.
- Prevost, C., Beuzet, M.L. (2003). Manuel de l'utilisateur du logiciel SEMPO. Projet Sempo-Comore. INRIA. 36p.
- Prézelin, B.B., Ley, A.C. (1980). Photosynthesis and chlorophyll *a* fluorescence rhythms of marine phytoplankton. *Mar. Biol.*, **55**: 295-307.
- Prieto, L., Ruiz, J., Echevarria, F., Garcia, C.M., Bartual, A., Galvez, J.A., Corzo, A., Macias, D. (2002). Scales and processes in the aggregation of diatom blooms: high time resolution and wide size range records in a mesocosm study. *Deep-Sea Res.*, **49**: 1233-1253.
- Puiseux-Dao, S. (1981). Cell-cycle events in unicellular algae. In: Platt T. ed. Physiological bases of phytoplankton ecology. Ottawa: *J. Can. Fish. Res. Bd.*, 130-149.
- Putt, M., Prézelin, B.B. (1988). Diel periodicity of photosynthesis and cell division compared in *thalassiosira weissflogii* (bacillariophyceae). *J. Phycol.*, **24**: 315-324.
- Rhee, G-Y. (1973). A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in *Scenedesmus* sp. *J. Phycol.*, **9**: 495-506.
- Rhee, G.Y., Gotham, I.J. (1981). The effect of environmental factors on phytoplankton growth : light and the interactions of light with nitrate limitation. *Limnol. Oceanogr.*, **26**(4): 649-659.
- Rykiel, E.J. (1996). Testing ecological models: the meaning of validation. *Ecol. Model.*, **90**: 229-244.
- Ryther, J.H., Yentsch, C.S. (1957) The estimation of phytoplankton production in the ocean from chlorophyll and light data. *Limnol. Oceanogr.* **2**: 281-286

- Sakshaug, E., Bricaud, A., Dandonneau, Y., Falkowski, P.G., Kiefer, D.A., Legendre, L., Morel, A., Parslow, J., Takahashi, M. (1997). Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results. *J. Plankton Res.*, **19**: 1637-1670.
- Savidge, G. (1980). Photosynthesis of marine phytoplankton in fluctuating light regimes. *Mar. Biol. Lett.* **1**: 295-300.
- Savidge, G. (1988). Influence of inter- and intra-daily light-field variability on photosynthesis by coastal phytoplankton. *Mar. Biol.*, **100**: 127-133.
- Sciandra, A., Lazzara, L., Claustre, H., Babin, M. (2000). Responses of growth rate, pigment composition and optical properties of *Cryptomonas* sp. to light and nitrogen stresses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **201**: 107-120.
- Sciandra, A., Gostan, J., Collos, Y., Descolas-Gros, C., Leboulanger, C., Martin-Jézéquel, V., Copin-Montégut, C., Avril, B. (1997). Growth-compensating phenomena in continuous cultures of *Dunaliella tertiolecta* limited simultaneously by light and nitrate. *Limnol. Oceanogr.*, **42**: 1325-1339.
- Sciandra, A., Ramani, P. (1994). The steady states of continuous cultures with low rates of medium renewal per cell. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **178**: 1-15
- Sherrer, B. (1984). Biostatistique. Gaëtan Morin éditeur. Montréal. 850p.
- Siron, R., Pelletier, E., Roy, S. (1996). Effects of dispersed and adsorbed crude oil on microalgal and bacterial communities of cold seawater. *Ecotoxicology*, **5**: 229-251.
- Stramski, D., Sciandra, A., Claustre, H. (2002). Effects of temperature, nitrogen and light limitation on the optical properties of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 392-403.
- Strathmann, R.R. (1967). Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume. *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 411-418.
- Strzepek, R.F., Price, N.M. (2000). Influence of irradiance and temperature on the iron content of the marine diatom, *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae). *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **206**: 107-117.
- Shuter, B.J. (1979). A model of physiological adaptation in unicellular algae. *J. Theor. Biol.*, **78**: 519-552.
- Sournia, A. (1974). Circadian periodicities in natural populations of marine phytoplankton. *Adv. Mar. Biol.*, **12**: 325-389.
- Syrett, P.J. (1981). Nitrogen metabolism of microalgae. In: Platt T. (ed.) Physiological bases of phytoplankton ecology. *Can. Bull. Fish. aquat. Sci.*, **210**: 182-210.
- Taylor, A.H., Geider, R.J., Gilbert, F.J.H. (1997). Seasonal and latitudinal dependencies of phytoplankton carbon-to-chlorophyll a ratios: results of a modelling study.
- Thompson, L., Thomas, C.D., Radley, J.M.A., Williamson, S., Lawton, J.H. (1993). The effect of earthworms and snails in a simple plant community. *Oecologia*, **95**: 171-178.
- Thomas, W.H., Gibson, C.H. (1990). Effects of small-scale turbulence on microalgae. *J. Appl. Phycol.*, **2**: 71-77.
- Vaccaro, R.F., Ryther, J. (1960). Marine Phytoplankton and the distribution of nitrite in the sea. *J. Const. Int. Explor. Mer.*, **25**: 260-271.
- Van de Hulst, H.C. (1957). *Light scattering by small particles*. John Wiley. New York.
- Veldkamp, H. (1976). *Continuous culture in microbial physiology and ecology*. Meadowfield.
- Verity P.G., Robertson C.Y., Tronzo C.R., Andrews M.G., Nelson J.G., Sieracki M.E. (1992). Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **37**: 1434-1446.

- Vidussi, F., Claustre, H., Bustillos-Guzman, J., Cailliau, C., Marty, J.C. (1996). Rapid HPLC method for determination of phytoplankton chemostanxinomic pigments : speration of chlorophyll a form divinyl-chlorophyll a and zaxanthin form lutein. *J. Plankton Res.* , **18**: 2377-2382.
- von Liebig, J. (1840). *Die chemie in ihrer anwendung auf agricultur und physiologie*. Taylor and Walton. London.
- Wada, E., Hattori, A. (1971). Nitrite metabolism in the euphotic layer of the central North Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **16**: 766-772.
- Walsh, P., Legendre, L. (1982). Effets des fluctuations rapides de la lumière sur la photosynthèse du phytoplancton. *J. Plankton Res.*, **4**: 313-327.
- Wehde, H., Bauckaus, J.O., Nost Hegseth, E. (2001). The influence of oceanic convection in primary production. *Ecol. Model.*, **138**: 115-126.
- Wood, E.J.F., Armstrong, A.J., Richards, F.A. (1967). Determination of nitrate in the sea water by cadmium-copper reduction of nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **47**: 23-31.
- Woods, J.D., Onken, R. (1982). Diurnal variation and primary production in the ocean- preliminary results of a Lagrangian ensemble method. *J. Plankton Res.*, **4**: 735-756.
- Yoder, J.A., Bishop, S.S. (1985). Effects of mixing-induced irradiance fluctuations on photosynthesis of natural assemblages of coastal phytoplankton. *Mar. Biol.*, **90**: 87-93.
- Zonneveld, C. (1998). A cell-based model for the chlorophyll *a* to carbon ratio in phytoplankton. *Ecol. Modelling*, **113**: 55-70.

Annexe

Pawlowski, L., Bernard, O., Le Floc'h, E., Sciandra, A. (2002).
Qualitative behaviour of a phytoplankton growth model in
photobioreactors. IFAC'2002 World Congress. 6p

QUALITATIVE BEHAVIOUR OF A PHYTOPLANKTON GROWTH MODEL IN A PHOTOBIOREACTOR

Lionel Pawlowski, Olivier Bernard, Emilie Le Floc'h,
Antoine Sciandra

COMORE:

LOV, BP 28, 06234 Villefranche-sur-Mer, France

&

INRIA, BP 93, 06902 Sophia-Antipolis Cedex, France

fax: +33 4 92 38 78 58 ; e-mail:obernard@sophia.inria.fr

Abstract: A nonlinear light- and nitrate-limited phytoplankton growth model in a photobioreactor is presented. Its qualitative steady input-output behaviour is studied and compared to biological observations of the evolution of ratios between nitrogen, carbon, chlorophyll with respect to the two considered inputs (light and dilution rate). A qualitative validation of the model is provided. The steady input-output behaviour is also used to get linear regressions that provide an estimate of the parameter values. The simulations of the model identified and validated with this approach are consistent with the data.

Keywords: photobioreactor, phytoplankton, qualitative analysis, identification, validation.

1. INTRODUCTION

The estimation of the amount of CO₂ fixed by oceanic phytoplankton during primary production is a key point to quantify the future evolution of atmospheric carbon. Modelling of phytoplankton growth is therefore an important challenge to improve the predictions on planet global warming. Phytoplankton growth is highly dependant on many environmental factors. Light, nutrients and temperature are generally considered as the main factors affecting phytoplankton growth (Chalup and Laws, 1990). In stratified waters, light is available in the surface layer but nitrates are generally present at low concentrations. On the contrary, in the deep layer, light is low and nitrate abundant. For intermediate situations, light and nitrates are both at suboptimal levels for phytoplankton growth. Moreover, due to vertical mixing, cells are continuously exposed to a variable environment, and must adapt their metabolism to sustain an

optimal growth under opposing gradients of light and nitrogen. This paper proposes a model that will describe the phytoplanktonic behaviour when both nitrogen and light are at suboptimal level.

Modelling, and therefore validation of biological systems are known to be very delicate. Contrary to other domains (physics, electronics, etc), biological models are not based on admitted laws (like *e.g.* the Ohm's law in electronics). To circumvent this difficulty, Bastin and Dochain (1990) have introduced mass balance modelling in bioprocesses. It results in splitting the model in two parts: modelling of mass transfers and modelling of biological kinetics. We propose here a method to test the structural validity of our model at steady state. More precisely, we assume that the input-output behaviour of the processes at steady state is qualitatively known and we check whether the model has the same properties. Thus, we must study the response of the equilibria reached by

the model to changes in the inputs (here light or nitrogen limitation rate). If the model does not fit the qualitative experimental observations, it will be rejected. The method consists of selecting from previous experiments or literature a set of experimental observations describing qualitatively the evolution of the steady states when an input is increased or decreased. In a second step, the model equilibria are computed and their variations and those of nonlinear combinations of state variables are studied with respect to the inputs.

The paper is organised as follows. In a first part, we present the experimental photobioreactor and the mechanism of carbon incorporation. Some experimental facts that should be reproduced by the model are listed. Secondly, we present the main hypotheses of the mass balance model, and we explain how the reaction rates have been chosen. In a third part, we study the steady states and their response to changes of the inputs. Finally we explain briefly the identification process and we present simulations to show that the model agreement with data is also quantitative.

2. SYSTEM OVERVIEW

2.1 Presentation of the photobioreactors

Photobioreactors are commonly used as culture systems for microalgae with various applications (health food, aquaculture, fine chemicals, environmental applications, etc...). In these systems, the growth rate of the microalgae is controlled by adjusting the environmental conditions of the culture such as light, temperature, nutrient supply... The photobioreactors used for this study consist of 5 liters thermostated vessels fed with sea water whose nitrate (NO_3) is the limiting substrate. The light intensity is adjusted by filters. The measurements of residual substrate is performed by an automaton related to an autoanalyser Technicon. The cell density is acquired with an automated laser HIAC particle counter. Chlorophyll *a* (Chl) is estimated with a spectrophotometer (Sciandra *et al.*, 2000) and the concentration of particulate carbon (*C*) and nitrogen (*N*) are obtained by a CHN analyser. For more details on the experimental device, see (Bernard *et al.*, 1996). Data were obtained from experiments of simultaneous limitation by light and nitrate with *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae).

2.2 The nonlinear coupling between light and nitrogen limitation

Experimental studies (Rhee and Gotham, 1981) have highlighted the interaction between light

and nutrients on growth through a physiological adaptation known as the compensation phenomenon. The cell can compensate a decrease of light intensity by optimising its ability to harvest photons through an increase of its pigment content (Falkowski and Owens, 1980) and by regulating the Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). Rubisco and chlorophyll represent large nitrogen reserves in the cell and vary with the nitrogen status and light limitation (Sciandra *et al.*, 1997).

2.3 The experimental steady input-output behaviour

The following biological features have been observed experimentally at steady state:

- *Carbon concentration* increases with light and decreases with dilution rate (see Fig. 1a and also see Geider *et al.*, 1998).
- *Chlorophyll concentration* is a decreasing function of the light due to photoadaptation (Laws and Bannister, 1980). It increases with the dilution rate (see Fig. 1b).
- *Chl:C* increases with the dilution rate and decreases with light intensity (Chalup and Laws, 1990; Geider *et al.*, 1998)
- *N:C* increases with the dilution rate (Chalup and Laws, 1990) and decreases with light.

3. MODEL SET-UP

3.1 Introduction

Many phytoplankton growth models have been developed for one limiting factor such as nutrient, light or temperature. Models integrating more than one limitation are often difficult to validate for two reasons. First, they often use numerous parameters that are difficult to identify from the available data (e.g. (Geider *et al.*, 1998)). Secondly, as they tend to describe detailed cellular processes, state variables often represent quantities that can not be measured experimentally (e.g. (Shuter, 1979)).

Our model integrates both limitations by light and nitrogen. It has been designed to have a simple formulation with few parameters. Three of the four state variables represent measurable quantities in a photobioreactor or in the open sea (chlorophyll, carbon, nitrate, particulate nitrogen). These features permit easier identification and validation.

Phytoplankton growth is assumed to be triggered by two distinct metabolic pathways: uptake and assimilation of nitrogen on one hand and carbon fixation through photosynthesis on the other hand.

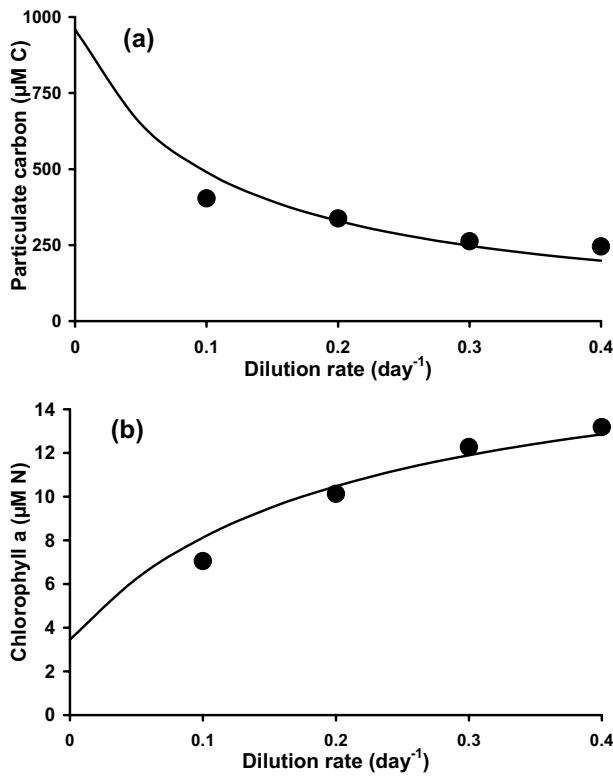
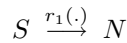


Fig. 1. Steady-state concentrations for particulate carbon (a) and chlorophyll *a* (b) at different dilution rates for experimental data (points) and calculated equilibria for model state variables (line) (see section 4.1 for details). Steady-state solutions evolve accordingly to observations.

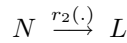
The associated reaction scheme (see (Bastin and Dochain, 1990) for more details on mass balance modelling) for the nitrogen pathway is therefore:

- First, nitrogen source (nitrate, denoted S) is uptaken by the cell into a cellular nitrogen pool (N) :



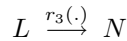
The rate of this reaction is denoted $r_1(\cdot)$.

- In a second step, the nitrogen pool is used to produce the chlorophyllian proteins (L) associated with the photosynthesis process:



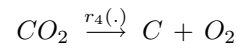
The rate of this reaction is denoted $r_2(\cdot)$.

- Finally, a natural degradation of the Chlorophyll is also taken into account. The rate of the reaction is $r_3(\cdot)$:



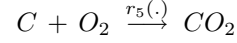
We assume that the carbon pathway results mainly from two reactions:

- Inorganic carbon (CO_2) is incorporated into the cell through photosynthesis to form particulate carbon (C).



The photosynthesis rate is $r_4(\cdot)$.

- A proportion of the carbon is lost by respiration:



The model has therefore the general form exposed in Bastin and Dochain (1990):

$$\frac{d\xi}{dt} = Kr(\xi) - D\xi + D\xi_{in} - Q(\xi) \quad (1)$$

with the following definitions:

$$\xi = \begin{pmatrix} S \\ N \\ L \\ C \\ CO_2 \\ O_2 \end{pmatrix}, \xi_{in} = \begin{pmatrix} S_{in} \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ CO_{2in} \\ O_{2in} \end{pmatrix}, r(\xi) = \begin{pmatrix} r_1(\xi) \\ r_2(\xi) \\ r_3(\xi) \\ r_4(\xi) \\ r_5(\xi) \end{pmatrix},$$

$$K = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & -1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix}, Q(\xi) = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ Q_{CO_2} \\ Q_{O_2} \end{pmatrix} \quad (2)$$

Here D is the dilution rate of the bioreactor, S_{in} , CO_{2in} and O_{2in} are respectively the concentration of S , CO_2 and O_2 in the renewal medium. The gaseous flow rate of carbon dioxide and oxygen outside the bioreactor are denoted Q_{CO_2} (it is generally negative because of the photosynthesis) and Q_{O_2} .

3.2 Kinetic description

Now we will use the available biological knowledge to estimate the reaction rates with respect to the state variables and to the light intensity I :

r_1 : The nitrate uptake rate is classically represented by a Monod kinetics (Dugdale, 1967): $r_1(\xi) = \rho_m \frac{S}{S(t) + K_s} C$. Parameters ρ_m and K_s represent respectively the maximum uptake rate and the half-saturation constant for the absorption of nitrate.

r_2 : The chlorophyll synthesis is assumed to be dependent on light intensity and on the ratio $\frac{L}{C}$. It is proportional to the nitrogen pool N : $r_2(\xi, I) = \gamma(I) N \frac{L}{C}$. We assume that the pigment synthesis is of Monod type at low irradiance and that it is inhibited at high light levels. We take the following expression: $\gamma(I) = \frac{\alpha K_L I}{K_I + I} \frac{K_C}{K_C + I}$ where α and K_I are respectively the maximum rate for carbon and the half-saturation coefficient for the fixation rate. K_L is the maximum synthesis rate and K_C is a threshold coefficient.

r_3 : The chlorophyll degradation rate is assumed to be constant (with a coefficient β): $r_3(\xi) = \beta L$.

r_4 : The photosynthesis rate is highly dependant on light level and chlorophyll pigments which act as catalyzers for this reaction. Inorganic carbon is considered as non-limiting for phytoplankton growth in marine environment, and therefore it does not intervene:

$r_4(\xi, I) = a(I)L$ with $a(I) = \frac{\alpha \cdot I}{K_I + I}$. The same coefficients α and K_I as these for $\gamma(I)$ have been selected in order to reduce the number of parameters (actually the identified values of these parameters for $\gamma(I)$ and $a(I)$ were quite close). In the sequel, we will consider the quantity $k(I) = \gamma(I)/a(I)$.

r_5 : The respiration rate is simply proportional to the carbon biomass (with a factor λ): $r_5(\xi) = \lambda C$.

From the preceding hypotheses, it follows that inorganic carbon and oxygen do not affect the other state variables. We will therefore consider the following submodel:

$$(\Sigma_D) \left\{ \begin{array}{l} \dot{S}(t) = D[S_{in} - S(t)] - \rho_m \frac{S(t)}{S(t) + K_S} C(t) \\ \dot{N}(t) = -DN(t) + \rho_m \frac{S(t)}{S(t) + K_S} C(t) \\ \quad - \gamma(I)N(t) \frac{L(t)}{C(t)} + \beta L(t) \\ \dot{L}(t) = -DL(t) + \gamma(I)N(t) \frac{L(t)}{C(t)} - \beta L(t) \\ \dot{C}(t) = -DC(t) + a(I)L(t) - \lambda C(t) \end{array} \right. \quad (3)$$

4. QUALITATIVE PROPERTIES

The analysis of the qualitative properties allows a structural validation of the model, independently from the parameter values. The aim of this analysis is to determine whether the steady input-output properties of the model are consistent with the observations.

4.1 Determination of the equilibria

In this step, we compare the steady-state model outputs and some of their ratios with their experimental equivalent for different dilution rates and light intensities. Relationships are expressed as functions of I and D .

Model solutions at steady-state are marked with $\star$. The $L^\star : C^\star$ ratio is deduced from $\dot{C}(t) = 0$:

$$\frac{L^\star}{C^\star} = \frac{D + \lambda}{a(I)} \quad (4)$$

The $N^\star : C^\star$ ratio is calculated from the equation $\dot{L}(t) = 0$:

$$\frac{N^\star}{C^\star} = \frac{D + \beta}{\gamma(I)} \quad (5)$$

The steady-state solutions of $S^\star$ and $N^\star$ are obtained by combining the equations $\dot{N}(t) = 0$ and $\dot{S}(t) = 0$:

$$S^\star = \frac{K_S D[k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)]}{\rho_m \gamma(I) - D[k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)]} \quad (6)$$

$$N^\star = \frac{(D + \beta)(S_{in} - S^\star)}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (7)$$

$C^\star$ is obtained from equations (6) and (8):

$$C^\star = \frac{\gamma(I)(S_{in} - S^\star)}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (8)$$

$L^\star$ is finally deduced from equations (5) and (9):

$$L^\star = \frac{k(I)(D + \lambda)(S_{in} - S^\star)}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (9)$$

4.2 Qualitative steady input-output behaviour

It is worth noting that measurements of $S^\star$ are always much smaller than S_{in} . The value of $S^\star$ is linearly related to K_S (see equation (6)) and K_S does not intervene for the computation of the other equilibrium states. Therefore the predicted value of $S^\star$ can be tuned by K_S : a small value of K_S will ensure that $S^\star$ computed from the model is very low. We will therefore approximate $S_{in} - S^\star \simeq S_{in}$. It follows that:

$$N^\star \simeq \frac{(D + \beta)S_{in}}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (10)$$

If the pigment degradation rate is higher than the respiration rate ($\beta > \lambda$), then $N^\star$ is a decreasing function with respect to light and dilution rate. We will make this assumption in the sequel.

We have then:

$$C^\star \simeq \frac{\gamma(I)S_{in}}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (11)$$

and:

$$L^\star \simeq \frac{k(I)(D + \lambda)S_{in}}{k(I)(D + \lambda) + (D + \beta)} \quad (12)$$

By differentiating the expression (5) with respect to light, it is straightforward to see that $\frac{N^\star}{C^\star}$ is minimal when $I_{opt} = \sqrt{K_I \cdot K_C}$. For lower intensities, this ratio is decreasing when light increases. The ratio $\frac{N^\star}{C^\star}$ decreases with light and increases with dilution rate.

The qualitative behaviour of the state variables and of the considered ratios, when I or D increase,

is summarized in Table 1. Figure 1 represents the variations of particulate carbon and chlorophyll concentrations for different dilution rates. In conclusion the proposed model has the same observed steady input-output behaviour as observations in the photobioreactor.

Quantity	I	D
C^*	+	-
L^*	-	+
N^*	+	-
$\frac{N^*}{C^*}$	-	+
$\frac{L^*}{C^*}$	- & +	+

Table 1. Qualitative input-output behaviour of the model: evolution of the steady-state values with respect to I and D (+: increasing, -: decreasing, - & +: decreasing then increasing).

5. QUANTITATIVE PROPERTIES

We propose here to use the steady input-output behaviour in order to identify the model parameters. We claim that this method provides better results than the classical global approach that consists in minimizing a criterion (e.g. least square between simulations and data) with respect to the parameter vector. Indeed, for biological systems whose models are rough approximations and whose measurements are noisy, the global minimization method leads most of the time to local minima. The proposed approach allows to decouple the parameter estimations (i.e. they are identified by small sets) and provides **at the same time** a way to validate the model. The approach is based on a quantitative analysis of the steady input-output behaviour. For sake of conciseness, we will explain the idea of the method with an example.

5.1 Use of the steady input output behaviour for identification

We will use the steady input-output behaviour obtained for the ratio $\frac{L^*}{C^*}$ given by equation (5) and rewritten here as a function of the inputs I and D :

$$\frac{L^*}{C^*} = \frac{K_I \cdot D}{\alpha \cdot I} + \frac{D}{\alpha} + \frac{\lambda \cdot K_I}{\alpha \cdot I} + \frac{\lambda}{\alpha} \quad (13)$$

This expression can be seen as a linear relationship between the steady ratio $\frac{L^*}{C^*}$, and the combinations of inputs given by $\frac{D}{I}$, D and $\frac{1}{I}$. Therefore, there is a regression between these known quantities and the unknown ratios $\frac{K_I}{\alpha}$, $\frac{1}{\alpha}$, $\frac{\lambda K_I}{\alpha}$ and $\frac{\lambda}{\alpha}$. Theoretically, a least square minimization of this regression for more than 4 independent data sets (i.e. measurements of the ratio $\frac{L^*}{C^*}$)

obtained for various inputs will provide an estimate of $\frac{K_I}{\alpha}$, $\frac{1}{\alpha}$, $\frac{\lambda K_I}{\alpha}$ and $\frac{\lambda}{\alpha}$. From these ratios it is straightforward to obtain the values of α , λ and K_I . Nevertheless this method involves many unknowns in the regression, and therefore we propose to improve it as follows. We will consider equation (13) obtained for 2 different values of I , denoted I_1 and I_2 . The difference between the values of $\frac{L^*}{C^*}$ obtained **for the same dilution rate** D is given by:

$$\frac{\frac{L^*}{C^*}|_{I_1} - \frac{L^*}{C^*}|_{I_2}}{\frac{1}{I_1} - \frac{1}{I_2}} = D \cdot \frac{K_I}{\alpha} + \frac{K_I \cdot \lambda}{\alpha} \quad (14)$$

It is worth noting that the terms $\frac{D}{\alpha}$ and $\frac{\lambda}{\alpha}$ disappeared in equation (14). The new relation is expressed as a linear function of D . A simple linear regression using experimental data will then provide an estimate of λ . Of course, α and K_I can not be directly evaluated from this regression, but from other relationships. In particular, the same approach can be used with the difference between ratios $\frac{L^*}{C^*}$ obtained for the same dilution rate and for various light intensities. The significance of the regression with respect to the data may be statistically checked to assess the quantitative validity of the steady input-output behaviour. Except ρ_m and K_S , all parameters have been identified with this method. ρ_m and K_S are identified in batch conditions (dilution rate is zero) at the beginning of each experiments since the kinetic of nitrate absorption is adequately estimated only when the nitrate concentration is detectable (after it falls under the detection threshold).

Only after this step of steady-state identification, parameters tuning is improved by a global least square minimization, starting with initial parameter values provided by the previous approach. The resulting values of the parameters are represented in Table 2. They do not differ greatly from the values obtained by the exploitation of the steady input-output behaviour.

parameters	values	units
ρ_m	0.5	$\mu \text{ mol N} \cdot \text{mol C}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
K_S	0.43	$\mu \text{ M N}$
K_L	6.59	n.d.
K_C	33.0	$\mu \text{ mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
α	24.1	d^{-1}
K_I	208.5	$\mu \text{ mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
λ	0.054	d^{-1}
β	0.345	d^{-1}

Table 2. Estimates of the model parameters.

5.2 Dynamic simulations

Dynamic simulations are compared to experimental time series. The model is integrated with a second order Runge-Kutta method with variable

step time. Three criteria are used to evaluate the model:

- 1) the difference between steady observations and model predictions.
- 2) the ability to describe transient phases obtained between two steady-states when the dilution rate has been modified.
- 3) the ability to describe batch mode results.

Chlorophyll and carbon predictions are close to experiments for steady-state conditions (see Fig. 2) but in some extreme cases of very low or high dilution or light intensities, the output of chlorophyll and carbon may be under- or overestimated. Transient phases are evolving accordingly to the experimental data. Carbon predictions are particularly close to measurements. For Chlorophyll, the model reproduces less precisely measurements.

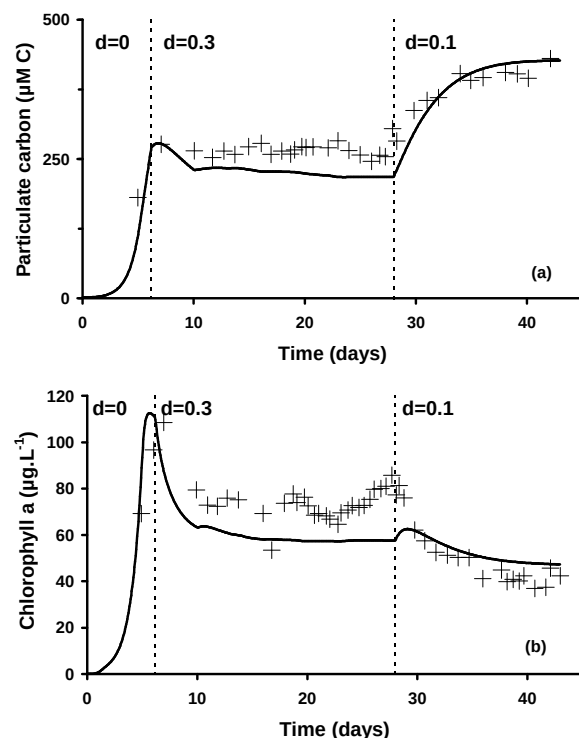


Fig. 2. Comparison of experimental data and model output for particular carbon (a) and chlorophyll (b). The light intensity of the experiment is $32 \mu\text{mol quanta.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. The dilution rate is successively set to 0, 0.3 and 0.1 d^{-1} .

6. CONCLUSION

Although this model is made of simple assumptions and has few parameters, it reproduces correctly the qualitative and quantitative input-output behaviour observed in the experiments. More generally, we have demonstrated in this approach the utility of the steady input-output

behaviour in order to validate and calibrate a biological model.

Acknowledgement: We thank the Action "Bioinformatique" of the CNRS (SEMPO) and the Colors action (Hydrobio) for their fundings.

7. REFERENCES

- Bastin, G. and D. Dochain (1990). *On-line estimation and adaptive control of bioreactors*. Elsevier.
- Bernard, O., G. Malara and A. Sciandra (1996). The effects of a controlled fluctuating nutrient environment on continuous cultures of phytoplankton monitored by a computer. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **197**, 263–278.
- Chalup, M.S. and E.A. Laws (1990). A test of the assumptions and predictions of recent microalgal growth models with the marine phytoplankter *Pavlova lutheri*. *Limnol. Oceanogr.* **35**(3), 583–596.
- Dugdale, R. C. (1967). Nutrient limitation in the sea: dynamics, identification and significance. *Limnol. Oceanogr.* **12**, 685–695.
- Falkowski, P.G. and T.G. Owens (1980). Light-shade adaptation : two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.* **66**, 592–595.
- Geider, R.J., H.L. Macintyre and T.M. Kana (1998). A dynamic regulatory model of phytoplankton acclimation to light, nutrients and temperature. *Limnol. Oceanogr.* **43**(4), 679–694.
- Laws, E.A. and T.T. Bannister (1980). Nutrient- and light-limited growth of *Thalassiosira fluviatilis* in continuous culture with implications for phytoplankton growth in the ocean. *Limnol. Oceanogr.* **25**(3), 457–473.
- Rhee, G.Y. and I.J. Gotham (1981). The effect of environmental factors on phytoplankton growth: light and the interactions of light with nitrate limitation. *Limnol. Oceanogr.* **26**(4), 649–659.
- Sciandra, A., J. Gostan, Y. Collos, C. Descolas-Gros, C. Leboulanger, V. Martin-Jezequel, M. Denis, D. Lefevre, C. Copin-Montegut and B. Avril (1997). Growth-compensating phenomena in continuous cultures of *Dunaliella tertiolecta* limited simultaneously by light and nitrate. *Limnol. oceanogr.* **42**(6), 1325–1339.
- Sciandra, A., L. Lazzara, H. Claustre and M. Babin (2000). Responses of the growth rate, pigment composition and optical properties of *Cryptomonas* sp. to light and nitrogen stresses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **201**, 107–120.
- Shuter, B. (1979). A model of physiological adaptation in unicellular algae. *J. Theor. Biol.* **78**, 519–552.

Modélisation de l'incorporation du carbone photosynthétique en environnement marin piloté par ordinateur

Dans le cadre du développement d'un nouveau modèle de croissance phytoplanctonique, une démarche théorique et expérimentale est menée afin d'évaluer la pertinence de certaines approches couramment employées en modélisation biogéochimique. Dans un premier temps, ce travail évalue dans quelle mesure un modèle de croissance phytoplanctonique validé à partir d'expériences réalisées en condition stable est capable de reproduire correctement les variations de la biomasse lorsqu'il est utilisé avec des forçages journaliers variables. Nous étudions aussi si des modèles très simples de colimitation azote/lumière sont capables de représenter l'évolution du carbone particulaire dans le milieu marin et dans quelle mesure le recours à un rapport chlorophylle sur carbone constant est applicable pour estimer la biomasse en carbone.

L'étude théorique est parallèle à la conduite d'expériences réalisées en chémostat sur des cultures de diatomées *Thalassiosira weissflogii*. Un dispositif automatisé permet de réaliser des mesures à haute fréquence et d'imposer différents régimes lumineux (continu, cyclique, apériodique). Les mesures acquises lors de ces expériences ont permis l'identification des paramètres et la validation du modèle de croissance à l'équilibre et d'étudier la réponse des différents descripteurs de la population aux variations journalières du flux de photons. Ces expériences ont également mis en évidence le contrôle de la division cellulaire par une horloge interne et le couplage complexe de l'absorption du substrat avec le flux de photons.

La comparaison des sorties du modèle aux mesures souligne que ces propriétés, généralement pas représentées dans les modèles ou alors de façon très sommaire, ont des conséquences significatives sur l'adéquation entre simulations et observations. Il apparaît également que la validité d'un modèle utilisé en dehors de son domaine d'identification est *a priori* incertaine. Cette étude montre également que des modèles très simples peuvent se révéler, à l'équilibre, compétitifs en terme de capacité à simuler une biomasse en carbone par rapport à des modèles plus élaborés. Cependant, ils deviennent beaucoup moins performants pour des forçages lumineux journaliers variables. Enfin, les résultats expérimentaux et théoriques montrent que l'estimation de la biomasse en carbone à partir de mesures de chlorophylle, en utilisant un rapport chlorophylle sur carbone constant, conduit à des incertitudes importantes. Leurs effets peuvent être significatifs pour la capacité d'un modèle à représenter la biomasse au sein d'un écosystème.

Mots clés: chémostat, modélisation, *Thalassiosira weissflogii*, validation, identification, photoadaptation, absorption, division cellulaire.