

Laboratoire de Chimie Analytique et Marine
UPRES A 8013 Écosystèmes Littoraux et Côtiers

50 376
1999
459

Thèse :

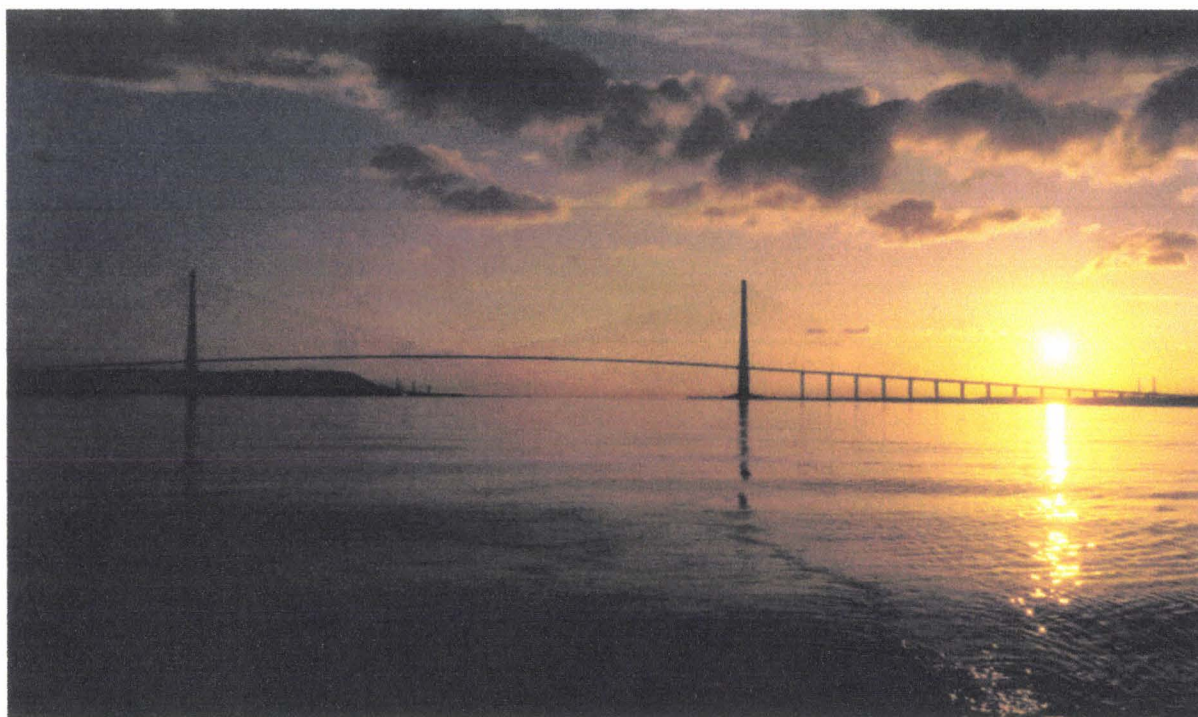
pour l'obtention du grade de Docteur de
l'Université des Sciences et Technologies de Lille
Discipline : Spectrochimie, Molécules, Solides et Réactivités

soutenance prévue le 21 décembre 1999 par

BEGHIN VINCENT

Titre :

**Étude de la matière organique et du réseau trophique en estuaire
de Seine ; Utilisation des marqueurs biochimiques
(acides gras et stérols)**



Jury :

M. BOURDIER, Professeur

M^{me} GOUTX, Chargée de Recherche CNRS

M. DAUVIN, Professeur

M. THOUMELIN, Maître de Conférences

M. WARTEL, Professeur (directeur de thèse)



D 030 178873 0

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier Monsieur G. Thoumelin, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et Technologies de Lille, pour m'avoir encadré et pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée au cours de ces années de recherche. Son sens critique, son aide au bureau, au laboratoire et lors de nos différentes campagnes ont beaucoup contribué à la réalisation de cette thèse. Je lui suis également reconnaissant pour avoir pu travailler dans la sympathie et une ambiance agréable ceci grâce à des règles de fonctionnement qui ont toujours été basées sur la concertation. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

J'exprime ma gratitude à Monsieur Wartel, Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille, pour m'avoir accueilli au sein de son équipe et donné les moyens d'acquérir une bonne connaissance en chromatographie et spectrométrie de masse. Je le remercie également pour l'attention portée à la rédaction de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur Bourdier, Professeur à l'Université de Clermont-Ferrand, spécialiste de la biologie des protistes et en particulier de leurs lipides, pour avoir accepté de juger cette thèse et d'en être rapporteur.

J'exprime mes remerciements les plus vifs à Madame Goutx, Chargée de Recherche au CNRS à l'Université de Marseille Luminy, spécialiste des lipides des microorganismes marins, pour avoir accepté de faire partie de ce jury et d'être rapporteur de ce travail.

La participation de Monsieur Dauvin, Directeur de la Station Marine de Wimereux et Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille à ce jury de thèse m'a semblé indispensable et c'est avec joie que j'ai appris qu'il acceptait d'être dans ce jury. De plus, je le remercie pour les conseils avisés qu'il m'a donnés dans le domaine de la biologie marine durant toute la thèse, et sans lesquels ce travail aurait été largement handicapé.

Je remercie Monsieur Bodineau, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et Technologies de Lille. J'ai toujours apprécié ses compétences en chimie, sa présence et sa disponibilité. Il a su à mes débuts de jeune océanographe me faire partager le goût d'un travail bien fait. Je l'en remercie très vivement.

Je tiens particulièrement à remercier Messieurs, Douez, Boughriet, Auger, Pruvost, Cavrot, Grare, enseignants-chercheurs de l'Université d'Artois pour leur sympathie et pour m'avoir toujours soutenu à l'I.U.T. de Béthune pour l'obtention d'un poste d'Attaché Temporaire de l'Enseignement et de la Recherche. J'ai aussi particulièrement apprécié d'enseigner en travaux pratiques de génie chimique, d'informatique et de physique avec Messieurs, Douez, Cavrot et Grare.

Je n'oublie pas tous les membres du laboratoire de Chimie Analytique et Marine qu'ils soient enseignants-chercheurs, personnels techniques (Christine) et administratifs (Madame David), ainsi que mes compagnons de mer (Pascal, Virginie, Gwen) pour l'aide qu'ils m'ont apportée.

J'associe également à ces remerciements les stagiaires de maîtrise de chimie de Lille et de l'IUT de Chimie de Béthune.

Je remercie aussi les coordinateurs du programme scientifique Seine-Aval. Les recherches exposées ici ont bénéficié en partie des soutiens financiers de l'état, des régions du Bassin Parisien, de l'Agence de l'eau Seine Normandie et des industries de Haute Normandie.

Dans ces remerciements, je ne peux oublier tous les membres d'équipage des navires océanographiques *CNRS/INSU* (Côte de la Manche, Côte d'Aquitaine, Côte de Normandie, Sepia) qui m'ont toujours accueilli avec sympathie et avec lesquels j'ai eu le plaisir d'effectuer des missions en mer.

Je remercie ma femme Christine, mes parents et ma sœur pour m'avoir largement encouragé et constamment soutenu pendant toutes ces années d'études lors des périodes difficiles. J'ai également une pensée pour ma fille Mathilde qui n'a pas toujours réussi à trouver un père présent et disponible, à qui je dédie cette thèse, aussi modeste soit-elle.

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre I: L'estuaire : une interface entre le milieu marin et le continent.....	3
I. Introduction.....	3
II. Présentation et fonctionnement des estuaires.....	3
II.1. Quelques définitions des estuaires.....	3
II.2 Classification des estuaires.....	6
II.2.a. Classification selon Pritchard (1955).....	6
II.2.b. Classification selon Davies (1964) et reprise par Hayes (1975).....	7
II.2.c. Classification selon des critères morphogénétiques.....	7
II.3 Processus physiques dans les estuaires dominés par la marée.....	9
III. La matière organique en milieu estuarien.....	11
III.1. Le filtre estuarien.....	11
III.2. Le carbone organique dissous et particulaire en milieu estuarien.....	12
IV. L'écosystème estuarien.....	15
IV.1 Définition du plancton.....	15
IV.2. Caractéristiques générales de la biocénose estuarienne.....	16
IV.3. Les biocénoses estuariennes planctoniques et suprabenthiques.....	16
IV.4. Relations trophiques dans un écosystème estuarien.....	20
V. Les marqueurs lipidiques et leur application à l'étude du réseau trophique.....	20
V.1. Définition des lipides.....	22
V.2. Nomenclature des acides gras.....	24
V.3. Nomenclature des stérols.....	27
V.4. Origines des marqueurs biochimiques : acides gras et stérols.....	30
V.4.a. Marqueurs phytoplanctoniques.....	31
V.4.b. Marqueurs des végétaux supérieurs.....	32
V.4.c. Marqueurs des bactéries.....	32
V.4.d. Marqueurs des rejets urbains et fécaux.....	33
V.5. Les acides gras et les stérols en tant que marqueurs trophiques.....	34

Chapitre II : Matériel et Méthodes	37
I. Introduction.....	37
II. Prélèvement des échantillons.....	37
III. Méthode d'analyse du carbone et de l'azote organiques.....	38
IV. Dosage de la chlorophylle-a et des phéopigments.....	40
V. Dosage des acides gras (AG) et des stérols (ST).....	41
V.1. Extraction des lipides totaux.....	41
V.2. Méthylation (transestérification) des AG.....	42
V.3. Préséparation des classes de lipides par HPLC.....	43
V.4. Identification et quantification des AG et ST par CG.....	45
<i>V.4.a. Dosage des acides gras</i>	45
<i>V.4.b. Dosage des stérols</i>	46
VI. Développement de méthodes d'identification par CG/SM.....	47
VI.1. Etude des spectres de masse d'acides gras méthylés.....	50
<i>VI.1.a. Les MeAG saturés</i>	50
<i>VI.1.b. Les MeAG ramifiés</i>	54
<i>VI.1.c. Les MeAG monoinsaturés</i>	54
<i>VI.1.d. Les MeAG polyinsaturés</i>	54
VI.2 Détermination des longueurs équivalentes de chaînes.....	55
VI.3 Analyse des spectres de masse des acides gras après dérivation supplémentaire.....	57
<i>VI.3.a. Dérivation par la pyrrolidine (figure 28) :</i>	58
<i>IV.3.b. Dérivation par le 2-amino-2-méthyl-propanol (figure 29) :</i>	58
VI.4. Etude de quelques spectres de masse d'AG-DMOX etd'AG-PYRRO.....	60
VII. Conclusion.....	66

<u>Chapitre III</u> : Origine et transport de la matière organique particulaire dans l'estuaire de la Seine.....	68
I. Introduction.....	68
II. Le programme Seine-Aval.....	68
III. L'estuaire de Seine.....	71
III.1. Description du site.....	71
III.2. Processus hydrodynamiques et sédimentaires : le bouchon vaseux.....	74
III.3. Transport de la MOP : Etat actuel des connaissances.....	74
III.4. Description des communautés mésozooplanctoniques et suprabenthiques.....	76
<i>III.4.a. La communauté mésozooplanctonique.....</i>	<i>76</i>
<i>III.4.b. La communauté suprabenthique.....</i>	<i>77</i>
IV. Echantillonnage.....	77
IV.1. Conditions hydrodynamiques.....	79
V. Etude de quelques paramètres physico-chimiques.....	79
V.1. Variations de la salinité, de la température et du pH.....	79
V.2. Variations des matières en suspension (MES) et du COP.....	81
V.3. Variations de la chlorophylle-a, des phéopigments et du COP algal.....	86
VI. Variations des acides gras.....	89
VI.1. Variations des AG totaux en avril et mai.....	89
VI.2. Variations des différentes catégories d'acides gras.....	91
<i>VI.2.a. Variations des AG individuels d'origine planctonique.....</i>	<i>95</i>
<i>VI.2.b. Variations des AG individuels d'origine bactérienne.....</i>	<i>98</i>
VII. Variations des ST totaux.....	101
VIII. Conclusion-résumé.....	108

<u>Chapitre IV</u> : Les régimes alimentaires du copépode <i>Eurytemora affinis</i> et de la crevette blanche <i>Palaemon longirostris</i> en zone oligohaline.....	110
I. Introduction.....	110
II. Etude d' <i>Eurytemora affinis</i>	112
II.1. Variations de la composition d' <i>Eurytemora affinis</i> au cours de cycles de marée.....	112
II.1.a. Variations des catégories d'acides gras des copépodes.....	112
II.1.b. Compositions détaillées en AG et ST d' <i>Eurytemora affinis</i> et comparaison avec la MOP.....	116
II.2. Variations de la composition d' <i>Eurytemora</i> au cours d'incubations.....	118
II.2.a. Compositions des différentes fractions particulières.....	118
II.2.b. Compositions en acides gras (AG) et en stérols (ST) des copépodes lors des incubations.....	121
II.3. Le régime alimentaire d' <i>Eurytemora affinis</i>	126
III. Etude de <i>Palaemon longirostris</i>	131
III.1. Variations saisonnières de la composition des estomacs.....	131
III.2. Compositions détaillées en AG et en ST des estomacs de <i>Palaemon longirostris</i> et comparaison avec la MOP et <i>Eurytemora affinis</i>	132
III.3. Influence des conditions diurnes et nocturnes sur la composition des estomacs de <i>Palaemon</i>	140
III.4. Variations de la composition des estomacs de <i>Palaemon longirostris</i> et des pelotes fécales lors d'une incubation.....	143
III.4.a. Compositions en acides gras (AG) et stérols (ST) des estomacs de crevettes avant et après incubation.....	143
III.4.b. Compositions en AG et ST des estomacs et des fèces de crevettes.....	146
III.4.c. Comparaisons des AG et des ST excrétés par <i>Eurytemora affinis</i> et <i>Palaemon longirostris</i>	146
III.5. Le régime alimentaire de <i>Palaemon longirostris</i>	147
IV. Conclusion.....	150
Conclusion générale.....	152
Bibliographie.....	154

Introduction générale

Les estuaires ont depuis longtemps été utilisés par l'homme comme voies de navigation vers l'intérieur des terres. Des sites portuaires y ont été installés surtout depuis le moyen âge. L'intensification du trafic maritime et la fabrication de navires de plus en plus importants ont souvent nécessité des travaux d'aménagement et de dragage des estuaires. Ceux-ci sont aussi soumis aux conséquences de l'urbanisation et de l'établissement d'activités industrielles soit directement, soit indirectement *via* les fleuves. Jusqu'à une époque récente, les conséquences écologiques de l'activité humaine sur ces milieux particuliers n'ont été que très peu prises en compte.

Les estuaires sont souvent décrits comme des interfaces entre les océans et les continents. Ce sont des zones complexes où les eaux marines se mélangent aux eaux chaudes apportées par les fleuves. Ces deux types d'eaux ont des compositions chimiques différentes et ceci a pour conséquence que les estuaires sont des environnements complexes dans lesquels les conditions limites sont extrêmement variables tant dans l'espace que dans le temps (Chester, 1990). Les estuaires sont aussi souvent considérés comme des filtres qui modifient de façon importante les apports véhiculés par les eaux douces et ceci grâce à des processus physiques, chimiques et biologiques complexes. Ainsi les estuaires peuvent-ils par exemple modifier les flux de matière organique, de sels nutritifs ou de métaux lourds qui arrivent de l'amont par les fleuves.

Peu d'espèces vivantes peuvent s'adapter à des environnements aussi variables que les estuaires. Aussi ces écosystèmes sont-ils peuplés par un petit nombre d'espèces animales. Depuis une trentaine d'années de nombreux travaux ont été menés pour comprendre l'écologie de ces espèces et pour préciser leurs rôles dans le fonctionnement de l'écosystème estuarien (Gasparini, 1997, et références citées). Un problème important dans ce type de milieux très turbides et où la production primaire est très limitée, est de déterminer si la base de la chaîne alimentaire est le phytoplancton ou la "boucle microbienne". Dans ce dernier cas, la matière organique détritique sert au développement des bactéries hétérotrophes qui sont consommées par les organismes de type ciliés ou flagellés, eux mêmes consommés par le zooplancton.

Cette thèse a porté sur l'étude des premiers maillons du réseau trophique dans l'estuaire de la Seine.

Le premier chapitre contient quelques généralités sur le fonctionnement des estuaires et ceci d'un point de vue physique, chimique et biologique. Il se termine par la présentation des marqueurs lipidiques que sont les acides gras et les stéroïdes et de leur utilisation dans l'étude du réseau trophique.

Le deuxième chapitre précise les différents protocoles analytiques utilisés, ainsi que l'utilisation de méthodes d'identification des acides gras polyinsaturés par chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse (CG-SM).

Cette thèse a été réalisée dans l'estuaire de la Seine dans le cadre du programme Seine-Aval. Ce programme sera brièvement présenté dans le troisième chapitre. Puis, après une description des caractéristiques de l'estuaire, une étude des différentes sources de la matière organique et de son transport réalisée au cours de cycles de marée en points fixes sera présentée.

Enfin, dans le quatrième chapitre, les régimes alimentaires de deux organismes estuariens, dont l'un appartient au mésozooplancton (*Eurytemora affinis*) et l'autre au suprabenthos (*Palaemon longirostris*), seront présentés. Ces deux organismes sont des maillons essentiels du réseau trophique dans l'estuaire de la Seine.

L'estuaire : une interface entre le milieu marin et le continent

I. Introduction

Ce premier chapitre a pour but de présenter les caractéristiques principales des estuaires du point de vue hydrodynamique, chimique et écologique. Par ailleurs l'utilisation des marqueurs biochimiques que sont les acides gras (AG) et les stérols (ST) pour déterminer les sources de la matière organique particulaire sera explicitée. De même, leur transfert dans la chaîne alimentaire permet de les utiliser en tant que marqueurs trophiques. Ceci fait l'objet du dernier point de ce chapitre.

II. Présentation et fonctionnement des estuaires

II.1. Quelques définitions des estuaires

Plusieurs dizaines de définitions des estuaires ont été proposées dans les dictionnaires, les encyclopédies ou par les spécialistes des différentes disciplines scientifiques (Perillo, 1995). Chaque définition est généralement influencée par la discipline de recherche de son ou de ses auteurs.

Ainsi, celles qui ont été élaborées par Ketchum (1951) et Pritchard (1952) sont établies selon des critères de géomorphologie et d'océanographie physiques. Ainsi selon Ketchum (1951) : "an estuary is a body of water in which the river mixes and measurably dilutes sea water". Selon Pritchard (1952) : "an estuary is a semi-enclosed coastal body of water having a free connection with the open sea and containing a measurable quantity of sea water". Les estuaires sont donc caractérisés comme des zones de mélange entre deux masses d'eaux d'origines différentes, l'une fluviale et l'autre marine.

Une dizaine d'années après, Cameron et Pritchard (1963) ont complété la version de Pritchard (1952) pour donner une définition souvent citée et qui est généralement attribuée au second auteur (Pritchard 1967) : "an estuary is a semi-enclosed coastal body of water having a

free connection with the open sea and within which sea-water is measurably diluted with fresh water derived from land drainage".

Si les trois définitions précédentes définissent les estuaires comme des interfaces entre l'océan et le continent, elles ne prennent en compte que des critères géologiques et physiques et ne considèrent pas du tout une caractéristique essentielle qui est la marée (Perillo, 1995). Pourtant le mot estuaire est d'origine latine et vient du latin "aestuarium" de "aestus" qui signifie "mouvement des flots". Dans la plupart des estuaires, la marée est le mécanisme majeur qui pourvoit l'énergie nécessaire pour mélanger les eaux douces et marines (Perillo, 1995).

Selon Dionne (1963) : "an estuary is an inlet of the sea reaching into a river valley as far as upper limit of tidal rise, usually being divisible into three sectors : a) a marine or lower estuary, in free connection with the open sea ; b) a middle estuary, subject to strong salt and freshwater mixing ; and c) an upper or fluvial estuary, characterized by fresh water but subject to daily tidal action". Cette définition est intéressante, non pas dans la définition de l'estuaire en elle-même, mais plutôt dans la subdivision proposée de l'estuaire en trois parties :

- estuaire inférieur marin,
- estuaire moyen (zone de mélange),
- estuaire supérieur ou fluvial qui est uniquement soumis à l'action de la marée.

Cette subdivision a été souvent reprise (Avoine, 1981 ; Chester, 1990 ; Thoumelin *et al.*, 1997).

Perillo (1995) a proposé la nouvelle définition suivante "an estuary is a semi-enclosed coastal body of water that extends to the effective limit of tidal influence, within which sea water entering from one or more free connections with the open sea, or any other saline coastal body of water, is significantly diluted with fresh water derived from land drainage, and can sustain euryhaline biological species from either part or the whole of their life cycle". Cette formulation apparaît la plus complète. Outre les critères physiques, la géomorphologie et la chimie (changement de composition des eaux), elle introduit l'aspect biologique qui est trop souvent oublié. Le terme "euryhaline" est ici appliqué à des organismes pouvant supporter une modification importante de la salinité.

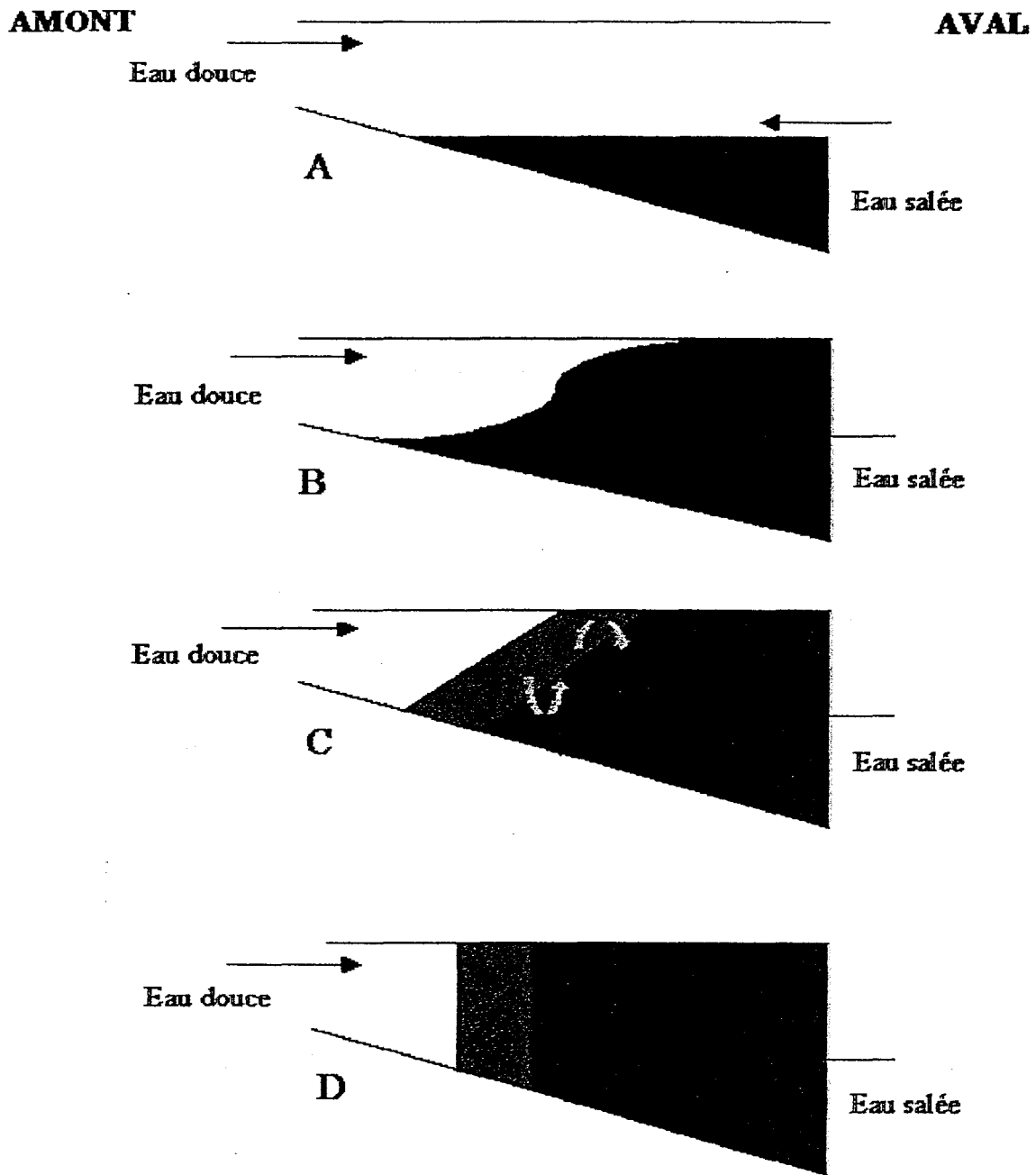


Figure 1 : Structure schématique des principaux types d'estuaires selon Prichard (1955) :

A : estuaire sans mélange.

B : estuaire à coin salé

C : estuaire partiellement mélangé.

D : estuaire verticalement homogène.

II.2. Classification des estuaires

Différentes classifications ont aussi été proposées pour les estuaires et dans ce cas encore selon différents paramètres. Nous en citons quelques unes ci-après.

II.2.a. Classification selon Pritchard (1955)

A partir de la distribution de la salinité, il est possible de classer les estuaires en quatre grands types :

- les estuaires de type A (figure 1) qui sont des estuaires sans mélange apparaissent complètement stratifiés. Ils sont caractérisés par un débit fluvial élevé, des courants de marée faibles et un rapport profondeur/largeur important. Les eaux salées, plus denses que les eaux douces de surface, pénètrent dans la partie amont de l'estuaire en fonction du débit du fleuve. Le mélange entre les eaux douces et les eaux salées ne se fait que très peu et uniquement par advection.
- les estuaires de type B (figure 1) appelés aussi estuaires à "coin salé". Les courants de marée sont généralement plus forts que dans le cas précédent. Des mélanges verticaux limités existent alors mais la stratification est toujours présente. Le marnage dans ce type d'estuaire est faible et n'excède pas deux mètres. Le déplacement du coin salé entre l'amont et l'aval dépend essentiellement du débit du fleuve.
- les estuaires de type C (figure 1) ou estuaires partiellement mélangés. Dans ce type d'estuaire, le rapport profondeur/largeur est plus faible que dans les estuaires de type A ou B et les courants de marée sont plus importants. Ceux-ci vont créer des turbulences au fond et provoquer un mélange plus accentué des eaux douces et salées. En période de crue (débit fort du fleuve) un estuaire partiellement mélangé devient un estuaire à coin salé.
- les estuaires de type D (figure 1) ou estuaires bien mélangés. Par rapport au cas précédent, les courants de marées sont beaucoup plus importants et le débit du fleuve est faible. Ainsi le

mélange des eaux est réalisé sur toute la colonne d'eau et il n'y a plus de stratification verticale. Par contre, il peut y avoir une stratification longitudinale.

II.2.b. Classification selon Davies (1964) et reprise par Hayes (1975)

Hayes définit trois types d'estuaires selon le marnage :

- les estuaires microtidaux ont un marnage inférieur à deux mètres.

- les estuaires mésotidaux sont caractérisés par une différence de hauteur d'eau entre la basse mer et la pleine mer de deux à quatre mètres. Ce type d'estuaire est le plus répandu et le plus étudié par exemple l'Orinoco au Vénézuéla, le Niger au Nigeria, la Columbia aux U.S.A). D'un point de vue dynamique, ils sont dominés par l'action du vent et des vagues. Quand le débit fluvial est important, on a formation de deltas (Mississippi, Nil).

- les estuaires macrotidaux sont caractérisés par un fort marnage qui est supérieur à quatre mètres. C'est le cas de la Baie de Fundy (Canada), du Rio Gallegos (Argentine) et des estuaires Nord-Européens (Gironde, Loire, Seine, Escaut, etc...). Depuis ces dernières années, ces estuaires ont été de plus en plus étudiés.

II.2.c. Classification selon des critères morphogénétiques

Perillo (1995) a élargi la définition des estuaires et considère qu'il existe deux types d'estuaires, les estuaires primaires et secondaires qui sont la résultante de caractéristiques génétiques et morphologiques différentes.

Les estuaires primaires sont le résultat de processus terrestres et/ou tectoniques et dont la mer n'a pas changé la forme originelle. Les estuaires précédemment évoqués se sont formés à partir d'une ancienne vallée fluviale. Cette catégorie comprend aussi les fjords formés à partir d'une ancienne vallée glaciaire et aussi les deltas (Perillo, 1995).

Les estuaires secondaires sont issus de processus marins et de leur prédominance sur les processus fluviaux depuis que le niveau des mers a atteint sa position actuelle.

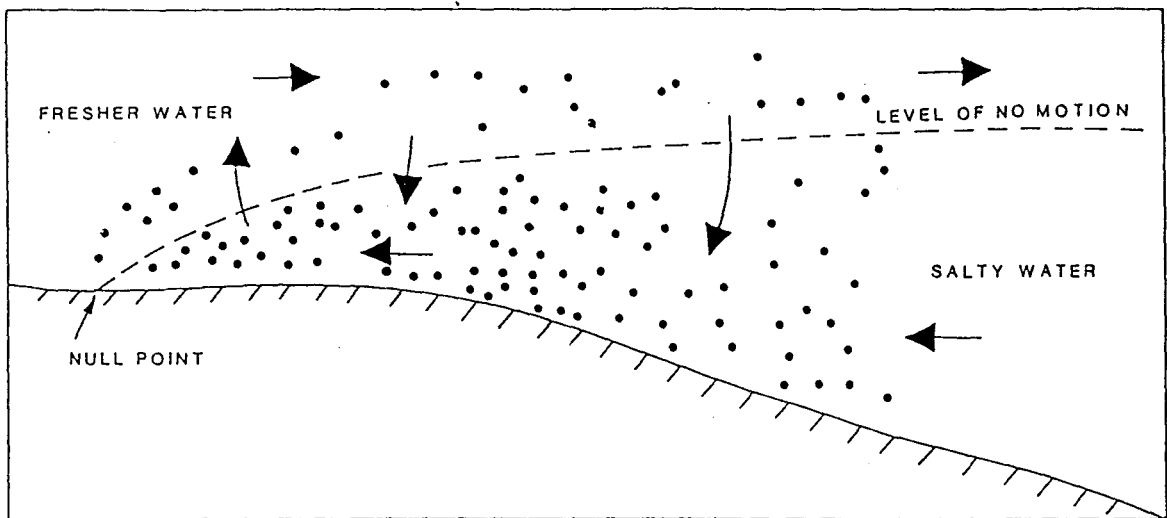


Figure 2 : Formation du bouchon vaseux d'après Dyer (1995).

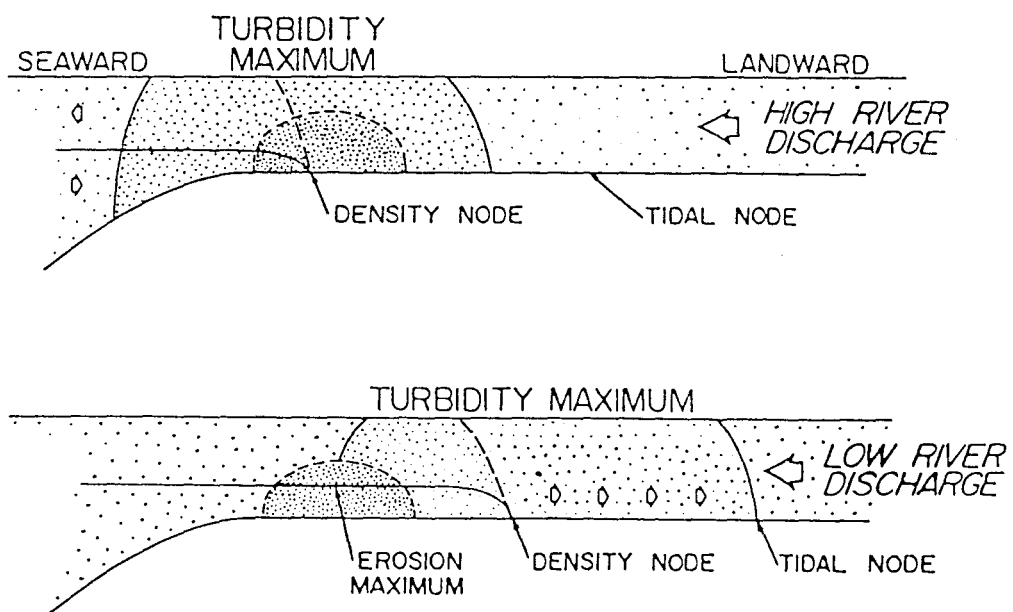


Figure 3 : Formation du bouchon vaseux d'après Wells (1995).

II.3. Processus physiques dans les estuaires dominés par la marée

L'extension de la marée dans le cours inférieur d'un fleuve a des effets importants sur la dynamique de transport des sédiments de fond et sur les particules en suspension (Wells, 1995). Le renversement des courants de marée induit un transport bidirectionnel des sédiments.

Par ailleurs, lorsque l'onde de marée remonte de l'aval vers l'amont, elle se déforme progressivement, et ceci se traduit par des vitesses de courant de flot supérieures à celles de jusant. En raison de cette dissymétrie des vitesses de courants, on observe un transport net vers l'amont au niveau du fond.

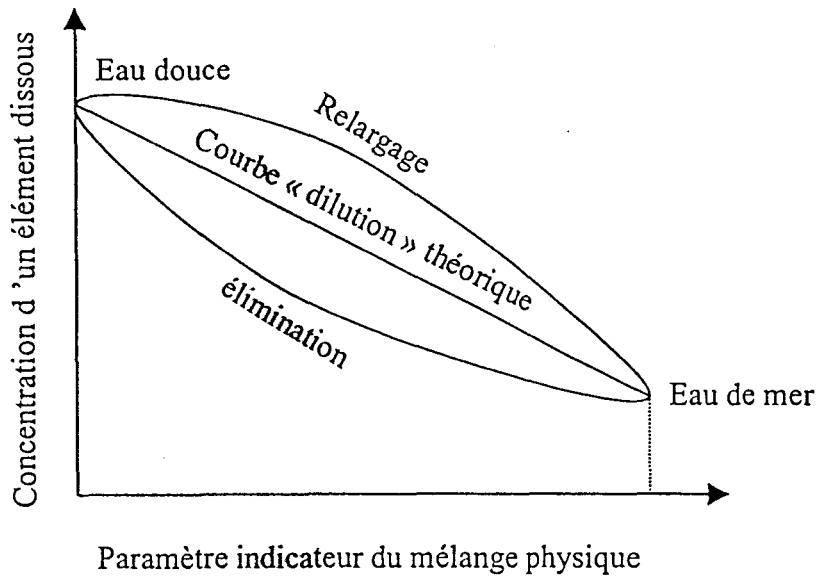
Dans les estuaires dominés par la marée, on observe la formation d'une zone de turbidité maximale (bouchon vaseux). Sa formation peut être expliquée en considérant les vitesses de circulation résiduelle (intégrées sur un cycle de marée) des eaux douces et des eaux marines qui contiennent des particules en suspension (figure 2). Les eaux douces plus légères se déplacent vers l'aval. Les particules qu'elles transportent sédimentent et sont retransportées vers l'amont par les eaux de mer et ceci jusque dans la zone de faible salinité.

La limite supérieure de cette accumulation est le point nodal (figure 2) où la vitesse résiduelle est nulle. Ce mécanisme est souvent évoqué pour expliquer la formation du bouchon vaseux. Cependant, la formation du bouchon vaseux peut être expliquée uniquement par des processus tidaux, en particulier l'assymétrie entre les courants de flot et de jusant (Avoine et Larssonneur, 1987 ; Wells, 1995).

Les bouchons vaseux sont des structures dynamiques qui se déplacent le long de l'estuaire. Ce déplacement peut être étudié selon différentes échelles de temps (semi-diurne, bihebdomadaire, annuelle, etc...). Au cours d'un cycle de marée semi-diurne, le bouchon vaseux effectue un mouvement de va-et-vient. Ce déplacement augmente avec l'intensité de la marée et est donc maximum en vive-eaux. Par ailleurs, plus le débit fluvial est important plus le bouchon vaseux est globalement déplacé vers l'aval (figure 3), et peut même être expulsé de l'estuaire, dans ce cas son importance diminue. Par contre, des conditions de faible débit fluvial contribuent à l'augmentation du bouchon vaseux dans l'estuaire, et ceci parfois au delà de la limite de l'intrusion saline (Wells, 1995).

On peut donc dire que le déplacement du bouchon vaseux dans l'estuaire, ainsi que son développement, sont des phénomènes complexes car ils dépendent à la fois de la marée et du

Origine Fluviale



Origine Marine

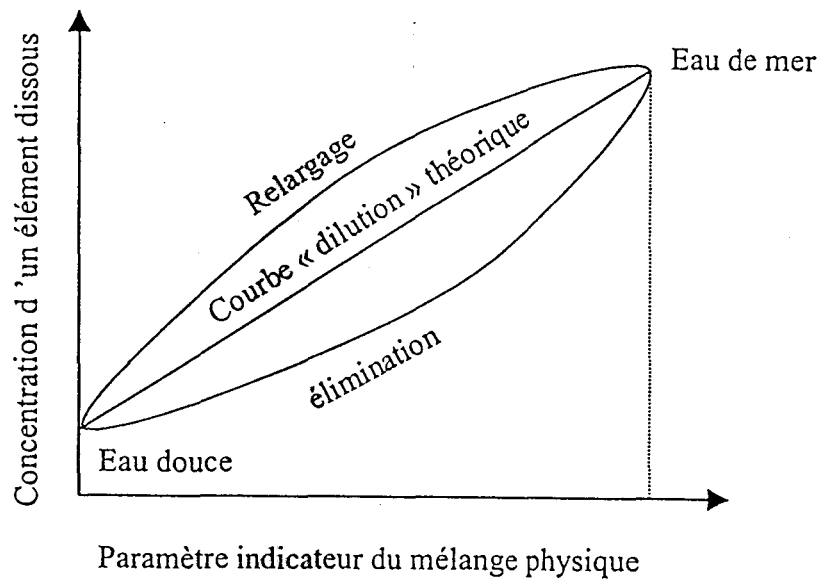


Figure 4 : Comportement des éléments ou des composés chimiques selon l'origine fluviale ou marine dans les estuaires.

débit fluvial qui varient de façon indépendante. A titre d'exemple, le bouchon vaseux de l'estuaire de la Columbia se déplace de vingt kilomètres au cours d'un cycle semi-diurne. Celui de l'estuaire de la Gironde se déplace sur quarante kilomètres au cours d'un an.

III. La matière organique en milieu estuarien

Il n'est pas possible dans ce paragraphe de présenter de manière exhaustive les phénomènes physico-chimiques auxquels sont soumis les éléments chimiques dans un estuaire.

Nous rappellerons quelques phénomènes importants et nous prendrons l'exemple de la matière organique (Chester, 1990). Sur le devenir des métaux traces en estuaire, on pourra se référer à Ouddane (1990).

III.1. Le filtre estuarien

Globalement, les estuaires peuvent être considérés comme des filtres, car les apports en éléments ou espèces chimiques des eaux douces vont être modifiés lors de leur passage dans la zone de mélange de l'estuaire. Les forts gradients physico-chimiques dans cette zone vont entraîner des échanges entre les compartiments dissous et particulaires, ainsi qu'entre la colonne d'eau et les sédiments. Les phénomènes mis en jeu sont la dissolution, éventuellement via la dégradation bactérienne sur les composés organiques, l'adsorption, la formation d'agrégats, la sédimentation, etc...

Pour étudier le comportement d'un élément ou d'un composé chimique dans un estuaire, on utilise souvent le diagramme de mélange. L'espèce chimique étudiée sera qualifiée de conservative si sa concentration ne dépend que du mélange eau douce/eau de mer. Dans ce cas pour des salinités intermédiaires entre celle de l'eau douce (salinité proche de zéro) et celle de l'eau de mer en sortie de l'estuaire (salinité maximale), les concentrations se situent sur la droite de dilution théorique ou droite de mélange (figure 4). Deux cas peuvent se présenter selon que l'espèce est en concentration plus importante dans l'eau douce par rapport à l'eau de mer ou si c'est le contraire qui est observé. Si les concentrations s'écartent de la droite de mélange le composé est qualifié de non conservatif. Dans le cas où les concentrations sont inférieures à celles théoriquement prévues par la droite de mélange on a

donc un processus d'élimination. Cette élimination peut être due par exemple au passage dans les sédiments, ou à la consommation par les organismes vivants. Dans le cas où les concentrations sont supérieures à celles prévues on a donc un ajout de l'espèce étudiée soit par des arrivées d'eaux adjacentes, ou par des rejets d'effluents dans l'estuaire, soit par un relargage des sédiments. Il n'est pas toujours facile d'expliquer les écarts par rapport à la droite de mélange. Par ailleurs, la notion de conservativité est principalement appliquée aux composés en phase dissoute et non aux composés en phase particulaire.

III.2. Le carbone organique dissous et particulaire en milieu estuarien

Dans un estuaire, la matière organique peut être d'origine autochtone c'est à dire produite *in situ*. Elle est alors principalement d'origine phytoplanctonique et dans une moindre mesure zooplanctonique et bactérienne, ou issue des algues macrobenthiques. La matière organique peut aussi être d'origine allochtone, c'est à dire externe, et être apportée par les eaux douces, les eaux marines, l'atmosphère ou encore être issue des zones humides adjacentes. Les apports de l'atmosphère sont généralement négligés (Laane, 1982). Par contre, les importances relatives des autres apports en matière organique sont généralement peu connus.

La matière organique peut être divisée en deux fractions : une fraction dissoute (MOD) n'étant pas retenue par un filtre à 0,45 μm , et une fraction particulaire de diamètre supérieur à 0,45 μm . Habituellement la teneur en matière organique est donnée en équivalent carbone et il est alors fait mention de carbone organique particulaire (COP) et de carbone organique dissous (COD) (Aminot et Kerouel, 1990).

Des résultats contradictoires ont été obtenus quant à la conservativité du COD. Par exemple, Laane, (1982), Mantoura et Woodward, (1983) ont constaté que le COD est conservatif dans les estuaires de l'Ems-Dollart et de la Severn. D'autres auteurs ont observé une non conservativité du COD. Une perte en COD a aussi été parfois observée dans la zone oligohaline (Doering *et al.*, 1994 ; Bodineau, 1996). Cette perte pourrait en particulier être due à des processus de floculation en particulier des substances humiques (Sholkovitz *et al.*, 1978). Inversement, des processus d'addition ont été aussi observés (Cauwet et Mackenzie, 1993) et ceci est dû, à la remobilisation du sédiment au cours du cycle de marée, libérant les eaux interstitielles riches en COD.

Enfin, Peterson *et al.* (1994) ont observé dans les estuaires de la côte Est des USA, que le COD est parfois conservatif et parfois ne l'est pas. Il tend à être conservatif quand le débit du fleuve est élevé. Quand celui-ci est faible, diverses sources comme le développement phytoplanctonique, les apports des marais adjacents, entraînent des excès de COD par rapport à la droite de mélange. En réalité ces processus existent aussi quand le COD se comporte globalement d'une manière conservative et ceci implique une dynamique de l'apport et de l'élimination du COD dans les estuaires étudiés (Peterson *et al.*, 1994).

Le COP a un comportement non conservatif directement lié à celui des particules dans l'estuaire. Le COP ne représente qu'un faible mais relativement constant pourcentage des matières en suspension (MES) dans la zone de haute turbidité : 2 à 4 % dans l'estuaire de l'Ems-Dollart aux Pays Bas (Laane, 1982), 3 % dans l'estuaire de la Loire (Relexans *et al.*, 1988). Ce pourcentage peut cependant augmenter dans le cas de faibles turbidités qui favorisent un développement planctonique important. Des pourcentages pouvant atteindre 24 % ont été observés dans l'estuaire du Yang Tze en Chine pour des turbidités inférieures à 100 mg/L en été (Cauwet et Mackenzie, 1993). Au sein du COP, on peut quantifier le carbone organique phytoplanctonique en multipliant les teneurs en chlorophylle-a par un facteur compris entre 25 et 50 (Laane, 1982 ; Relexans *et al.*, 1988 ; Bodineau, 1996).

Les marqueurs isotopiques, en particulier l'utilisation du $\delta^{13}\text{C}$, permettent de différencier le caractère marin ou terrigène de la MOP (Saliot *et al.*, 1998 ; Gearing *et al.*, 1994 ; Prahl *et al.*, 1997).

Les apports issus des végétaux supérieurs peuvent aussi être mis en évidence pour les composés phénoliques issus de l'oxydation de la lignine (Hedges et Parker, 1976 ; Prahl *et al.*, 1997).

Enfin les apports récents de différentes sources de MOP (végétaux supérieurs, phytoplancton, bactéries, apports anthropiques) peuvent aussi être recherchés par le biais des marqueurs lipidiques (acides gras et stérols). Ceci sera développé plus loin dans ce chapitre.

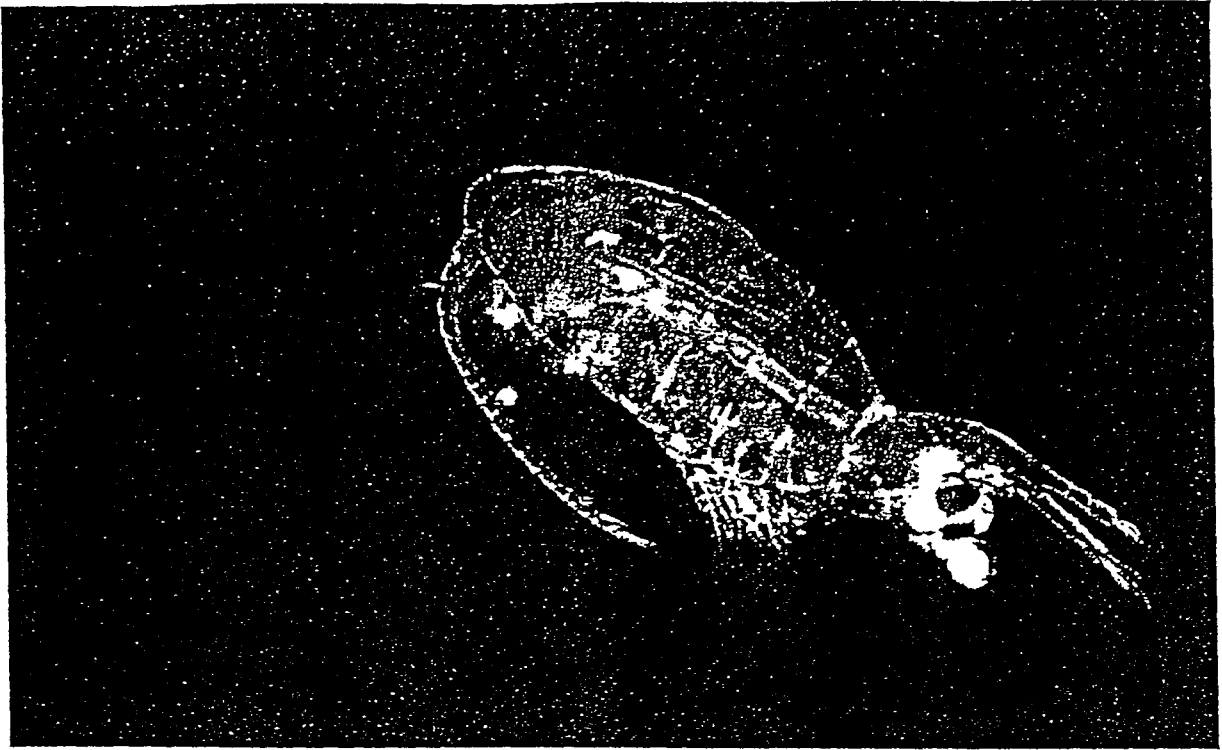


Figure 5 : Photographie du copépode estuarien *Eurytemora affinis* (femelle ovigère). Un centimètre représente 135 μm d'après Gasparini (1997).

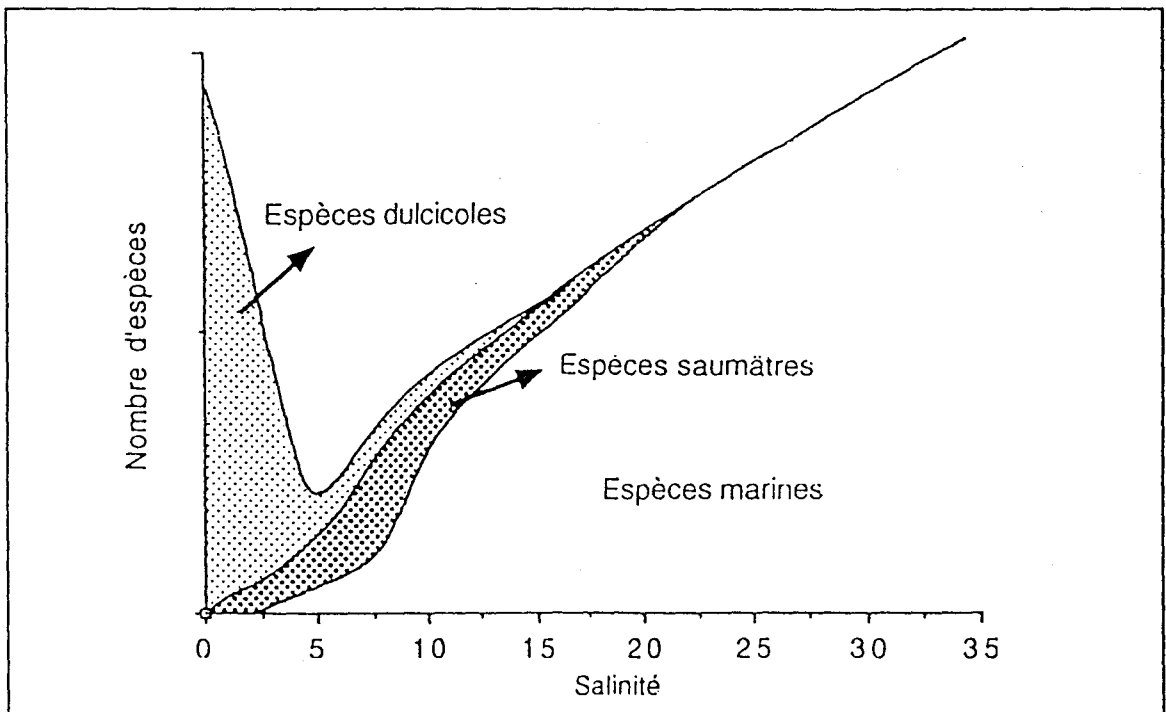


Figure 6 : Proportion d'espèces d'eau douce, saumâtre et marine dans les estuaires d'après Remane (1934).

IV. L'écosystème estuarien

IV.1. Définition du plancton

Par définition, le plancton est constitué de tous les organismes animaux et végétaux vivant dans l'eau (qu'elle soit marine, saumâtre ou douce). Ils sont caractérisés par de faibles capacités natatoires et sont donc entraînés par les courants.

Les algues phytoplanctoniques unicellulaires sont à l'état de cellules isolées de taille généralement supérieure à 10 μm , elles peuvent aussi s'associer pour former des chaînes. Les diatomées (bacillariophycées) constituent une des classes d'algues les plus communément rencontrées dans le milieu aquatique, y compris dans les estuaires. Leurs parois cellulaires sont formées de deux valves en silice qui peuvent s'emboîter et que l'on nomme frustules. Les frustules permettent une identification facile des diatomées, et pour cette raison ces algues sont les mieux connues (Belin et Martin-Jézéquel, 1997).

Les dinophycées, malgré leur grande taille (de 5 μm à 2 mm) ont été surtout étudiées à l'occasion de la formation "d'eaux colorées".

Les autres classes comme les cyanophycées, les chrysophycées, les cryptophycées, etc..., sont moins connues car leur identification est plus difficile et elle nécessite l'utilisation de la microscopie électronique (Belin et Martin-Jézéquel, 1997).

La fraction zooplanctonique est constituée d'organismes unicellulaires comme les ciliés pluricellulaires, comme les copépodes. Ils sont hétérotrophes c'est à dire qu'ils se nourrissent de matière organique déjà formée. Cette matière organique peut être d'origine végétale, animale ou détritique.

Les organismes herbivores se nourrissent de phytoplancton tandis que les carnivores se nourrissent d'herbivores, mais aussi d'œufs et de larves d'organismes variés (Le Fèvre-Lehoërff *et al.*, 1997). Les pelotes fécales produites par certaines espèces peuvent être consommées par d'autres qui sont coprophages. Enfin, le zooplancton est souvent dominé par les copépodes (figure 5).

IV.2. Caractéristiques générales de la biocénose estuarienne

Pour une synthèse des connaissances sur ce sujet, on pourra se référer à Bachelet *et al.* (1997). Les êtres vivants dans les estuaires doivent supporter deux grandes contraintes écologiques, d'une part les fortes turbidités des eaux et d'autre part la grande variabilité de la salinité. Ces deux facteurs sont à l'origine du faible nombre d'espèces (figure 6) qui vivent en permanence dans l'estuaire malgré le fait que les matières nutritives ou la nourriture y soient en général abondantes.

Les organismes estuariens, pour survivre, doivent donc être euryhalins c'est à dire doivent supporter de grandes variations de salinité et pour cela avoir la capacité de réguler leurs concentrations ioniques.

Ceci explique qu'il existe des ruptures dans la répartition des espèces en fonction de la salinité. Les espèces d'eau douce peuvent ainsi survivre jusqu'à une salinité de 5 Practical Salinity Unit (P.S.U.), même si leur nombre diminue fortement (figure 6). Par contre les espèces marines n'apparaîtront que pour une salinité supérieure à 5 P.S.U. (figure 6). A l'extrémité aval de l'estuaire les espèces typiquement marines ne sont exclusivement observées que pour une salinité supérieure à 20 P.S.U. (figure 6).

Les espèces saumâtres purement estuariennes sont peu nombreuses.

IV.3. Les biocénoses estuariennes planctoniques et suprabenthiques

La composition spécifique du plancton est très semblable dans des estuaires situés dans une même zone géographique. Ainsi, en estuaire de Seine à chaque saison, seulement sept taxa caractérisent le mésozooplanton (Mouny *et al.*, 1996). Par exemple, dans les estuaires Nord-Européens, le copépode *Eurytemora affinis* est présent principalement dans la zone oligohaline (tableau 1). Il est majoritaire parmi les organismes zooplanctoniques. *Eurytemora affinis* en milieu estuarien Nord -Européen atteint un maximum d'abondance dans la période printanière, époque où le développement phytoplanctonique est maximal. La biomasse zooplanctonique (en poids sec/m³) est ainsi minimale en hiver et maximale au printemps.

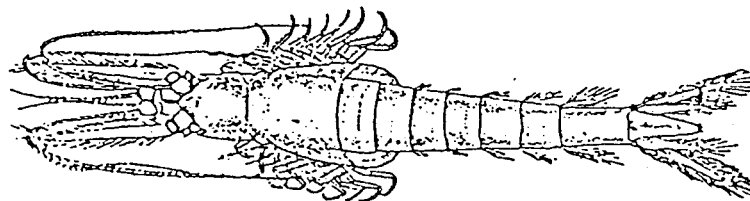
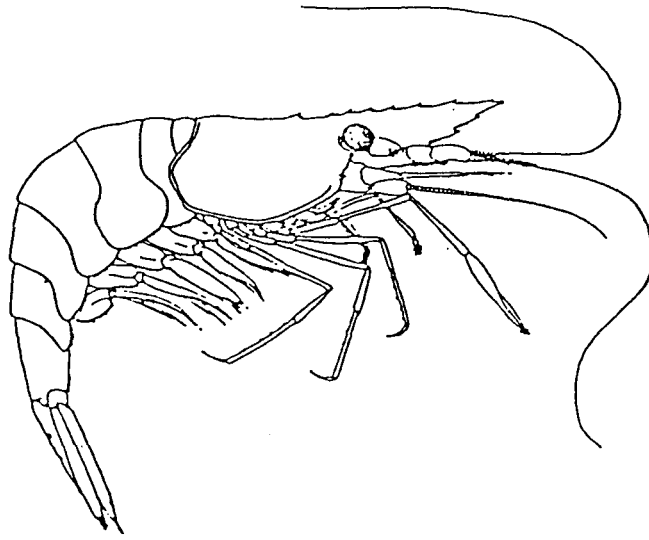


Figure 7 : Schéma d'une *Palaemon longirostris* et d'un *Neomysis integer* (Mouny, 1998).

Nom et localisation de l'estuaire	Zone de salinité de maximum d'abondance	Référence bibliographique
Seine (France)	0,0 à 5 P.S.U.	Mouny, 1998
Gironde (France)	0,5 à 10 P.S.U.	Feurtet, 1989
L'Elbe (Allemagne)	0,0 à 0,5 P.S.U.	Soltampour-Gargari et Wellerhaus, 1985
Weser (Allemagne)	0,0 à 1 P.S.U.	Soltampour-Gargari et Wellerhaus, 1985
L'Escaut (Hollande)	0,5 à 10 P.S.U.	De Pauw, 1973
Forth (Ecosse)	0,0 à 10 P.S.U.	Roddie <i>et al.</i> , 1984

Tableau 1 : zone de salinité de maximum d'abondance du copépode *Eurytemora affinis* dans quelques grands estuaires Nord- Européens.

Par contre, les copépodes *Acartia bifilosa* et *Acartia tonsa* se situent plutôt dans la zone polyhaline de l'estuaire. Généralement, les espèces vont être réparties longitudinalement dans les estuaires selon la gamme de salinité qu'elles tolèrent le mieux. Pour maintenir leur position dans cette gamme et pour ne pas être expulsées à l'extérieur de l'estuaire, elles vont effectuer des mouvements verticaux. En effet, en règle générale, les courants résiduels de surface ont un mouvement vers l'aval et ceux du fond vers l'amont. Ces mouvements verticaux vont permettre aux espèces planctoniques de pouvoir être transportées soit vers l'aval, soit vers l'amont et donc de se maintenir dans la gamme de salinité qui leur convient.

Dans les estuaires, on constate aussi la présence d'une communauté de crustacés pélagiques vivant le plus souvent à proximité du fond et qui constitue le suprabenthos (Bachelet *et al.*, 1997). Elle représente une ressource importante de nourriture pour les poissons. En estuaire de Seine, quatre vingt neuf taxa ont été identifiés (Mouny *et al.*, 1996). On citera la présence de mysidacés comme *Néomysis integer* (figure 7) et de crevettes comme *Palaemon longirostris* (figure 7) et *Crangon crangon*.

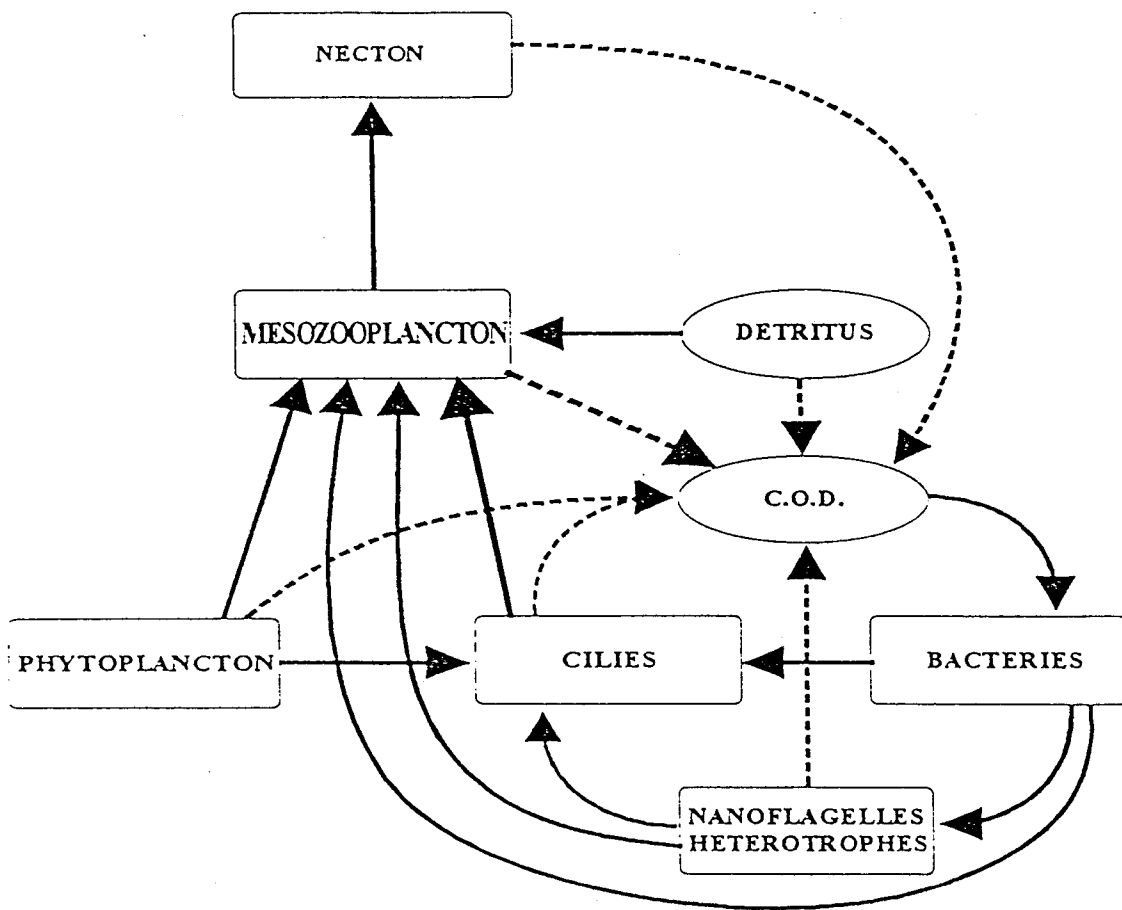


Figure 8 : Schéma simplifié des relations trophiques au sein d'un écosystème pélagique estuarien. Le compartiment détritus a été ajouté en raison de son importance quantitative dans ce type de milieux. D'après Lenz (1992) et Gasparini (1997).

IV.4. Relations trophiques dans un écosystème estuarien

En général dans les estuaires, le mésozooplancton est constitué de copépodes, il joue un rôle important dans la chaîne alimentaire (figure 8). Il est le maillon essentiel entre la production primaire (phytoplancton) et les échelons supérieurs du réseau trophique que sont les prédateurs (crevettes, larves de poissons).

Dans un écosystème pélagique estuarien, le mésozooplancton peut se nourrir de phytoplancton, de ciliés, de bactéries, de détritits et de nanoflagellés hétérotrophes (figure 8).

Si l'on souhaite évaluer de manière précise le rôle des organismes mésozooplanctoniques dans un réseau trophique estuarien, cela nécessite une connaissance sur la prédation (broutage, taux d'ingestion, etc...) qu'ils sont susceptibles d'exercer sur les différentes sources de nourriture.

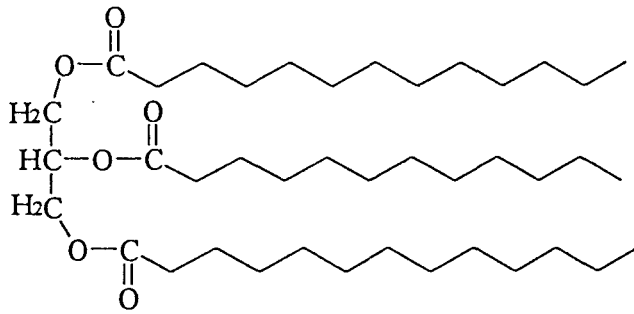
V. Les marqueurs lipidiques et leur application à l'étude du réseau trophique

Un des objectifs des études menées sur les écosystèmes estuariens est une meilleure connaissance de la structure et de la composition quantitative des populations mésozooplanctoniques et suprabenthiques qui en sont des maillons-clef. Par ailleurs, un autre aspect important est la connaissance de la dynamique de ces populations, ainsi que celle de la production annuelle des différentes espèces qui la composent (Mouny, 1998).

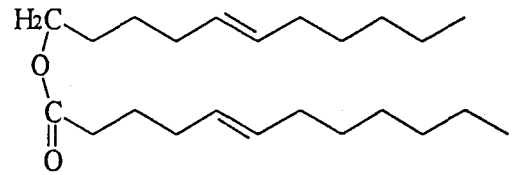
Enfin, la connaissance du régime alimentaire de chaque espèce permet d'établir le réseau trophique. Une détermination au moins partielle de ce régime peut être réalisée par l'analyse microscopique des contenus stomacaux. Ceci n'est cependant possible que pour des animaux ayant une taille suffisante et ne peut pas être appliqué pour les copépodes qui ont une taille de l'ordre de 60 μm à 500 μm .

Ainsi, d'autres techniques sont-elles nécessaires, l'utilisation de marqueurs biochimiques indicateurs de l'origine ou des origines de la matière organique ingérée peut elle apporter des renseignements intéressants à ce sujet. Ces marqueurs biochimiques peuvent être les pigments chlorophylliens qui donnent des indications sur les différentes classes d'algues phytoplanctoniques consommées. Les marqueurs lipidiques (acides gras et stérols) peuvent aussi donner des indications à ce sujet mais aussi sur d'autres origines éventuelles (bactéries,

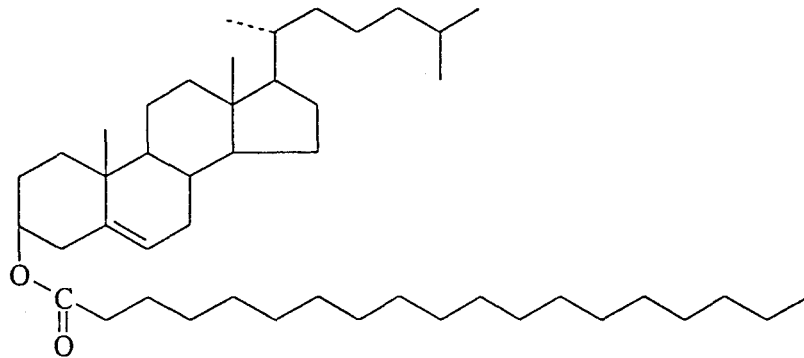
Lipides simples



Triacylglycérol

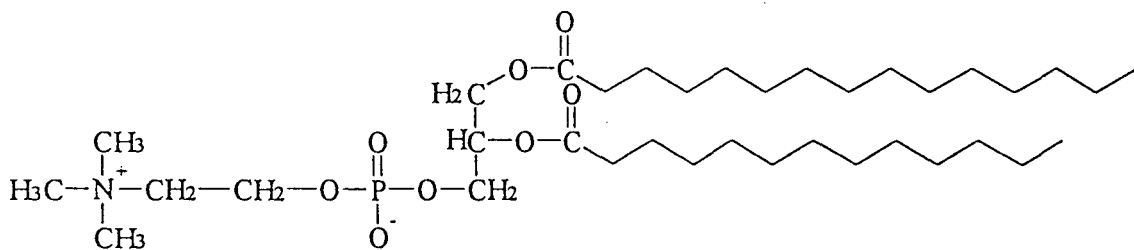


Ester cuticulaire



Ester de stérol

Lipides complexes



Phospholipide (phosphatidyl choline)

Figure 9 : Structure de lipides simples et complexes.

végétaux supérieurs, rejets urbains, etc...). L'utilisation des lipides en tant que marqueurs biogéochimiques va être développée dans ce qui suit.

V.1. Définition des lipides

Les lipides constituent une des grandes classes de composés organiques présents chez tous les organismes vivants. Une de leurs propriétés caractéristiques est d'être soluble dans des solvants organiques non miscibles à l'eau comme le chloroforme ou l'hexane. Cette définition est cependant trop générale. Ainsi, on peut définir plus précisément les lipides comme étant des acides gras et leurs dérivés, ainsi que l'ensemble des substances reliées d'un point de vue biosynthétique et fonctionnel à ces composés (Christie, 1989).

On peut diviser les lipides en deux grandes catégories, les lipides simples (figure 9) qui lors de la saponification donneront au maximum deux types de composés et les lipides complexes (figure 9) qui en fourniront trois ou plus (Christie, 1989).

Dans les lipides simples :

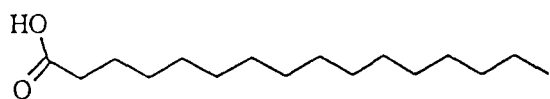
- les *triacylglycérols* qui sont des dérivés du glycérol, où chaque groupe hydroxyle est estérifié à un acide gras. Ils sont synthétisés par le système enzymatique et servent à stocker l'énergie. On peut aussi trouver des diacylglycérols et des monoacylglycérols.
- les *esters de stérol* qui sont des esters d'acides gras et de stérols.
- les *esters cuticulaires* qui sont des esters d'acides gras et d'alcools gras.

Les lipides simples sont habituellement considérés comme les lipides de réserve

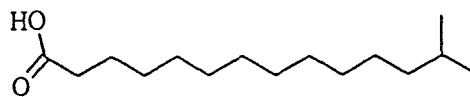
Dans les lipides complexes, on trouve :

- les *glycérophospholipides* comme la phosphatidyl choline (lécithines) (figure 9).
- les *glycéroglycolipides*.
- les *sphingolipides*.

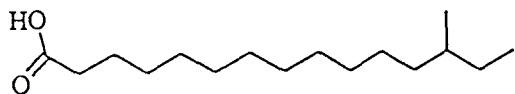
Les lipides complexes sont associés aux structures membranaires cellulaires (Alberts *et al.*, 1983) et subcellulaires. Ainsi, les glycérophospholipides sont présents dans les plantes et associés aux chloroplastes (Miller, 1962 ; Parrish, 1998) qui sont les principaux sites de



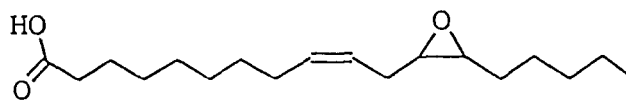
C16:0 acide hexadécanoïque (acide palmitique)



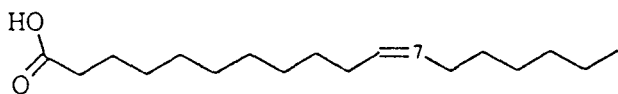
i-C15:0 acide *iso* pentadécanoïque



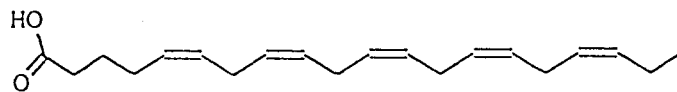
a-C16:0 acide *antéiso* hexadécanoïque



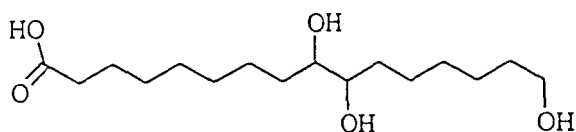
12,13-époxy-cis-9-octadécénoïque (acide vernolique)



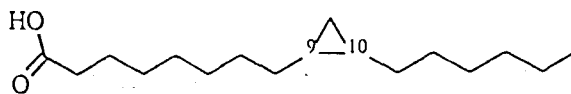
C18:1 ω 7 acide cis-11-octadécénoïque (acide cis-yaccénique)



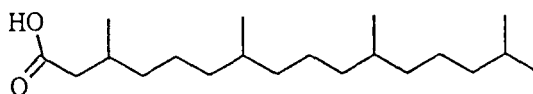
C20:5 ω 3 acide eicosapentaénoïque



acide 9,10,16-trihydroxyhexadécanoïque (acide aleuritique)



∇ 17(9,10) acide cyclopropyl (9,10) heptadécanoïque



b3,7,11,15-16:0 acide 3,7,11,15-tétraméthylehexadécanoïque (acide phytanique)

Figure 10 : Nomenclature et formules de quelques acides gras.

synthèse des acides gras (Harwood, 1988). Certains phosphatides sont de bons agents émulsifiants (lysophosphatides, lécithines). Les variations au niveau de la structure des phosphatides incorporés dans les membranes permettent de maintenir une fluidité compatible avec le bon fonctionnement cellulaire.

V.2. Nomenclature des acides gras

Les acides gras, et dans une moindre mesure les stérols, sont des constituants fondamentaux des lipides. Aussi est-il important de présenter ici les structures moléculaires présentes dans le milieu naturel.

Les acides gras naturels synthétisés par des organismes vivants sont des acides carboxyliques dont la chaîne alkyle est composée en général de deux à quarante atomes de carbone. Lors d'une analyse chromatographique, nous séparons environ quarante acides gras, ceux-ci sont regroupés dans différentes familles selon leur nombre d'insaturations situées sur la chaîne alkyle.

Ainsi parmi les acides gras, on distingue :

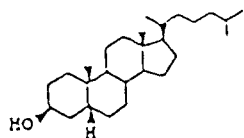
- les acides gras saturés à chaîne linéaire (figure 10).

Ils possèdent de 14 à 32 atomes de carbone. Ils sont notés $C_n:0$ où n est le nombre d'atomes de carbone de la chaîne linéaire, et 0 indique qu'il n'y a pas d'insaturation. Les acides gras à plus de 24 atomes de carbone sont habituellement nommés acides gras lourds.

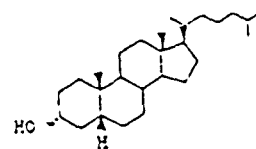
- les acides gras saturés à chaîne ramifiée (figure 10).

En général, la ramification est due à un groupement méthyle branché soit en position pénultième (*iso*), soit en position antépénultième (*antéiso*). Ils sont alors notés avec le préfixe *i* ou *a* selon la position du méthyle. Le méthyle est compté dans le nombre d'atomes de carbone de la chaîne linéaire, ainsi l'*i*-C15:0 possède en tout 15 atomes de carbone dont 14 sur sa chaîne linéaire, et un méthyle branché sur son treizième carbone. Le préfixe *br* est utilisé lorsque l'on ne connaît pas la position du groupement méthyle (Arts et Wainman, 1998). On peut aussi rencontrer des acides gras avec plusieurs substituants méthyles, le plus courant est l'acide phytanique ou acide 3,7,11,15-tetraméthyle hexadécanoïque. Ils sont définis par la

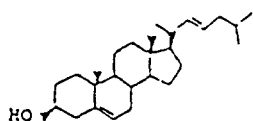
5 β -(H)-Cholestan-3 β -ol
(coprostanol)



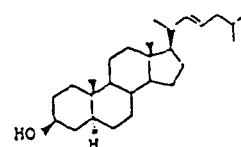
5 β -(H)-Cholestan-3 α -ol
(épicooprostanol)



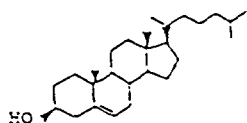
Cholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol
(trans-22-déhydrocholestérol)



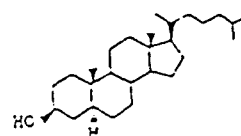
5 α -(H)-Cholest-22(E)-ène-3 β -ol
(trans-22-cholestanol)



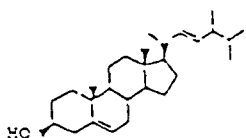
Cholest-5-ène-3 β -ol
(cholestérol)



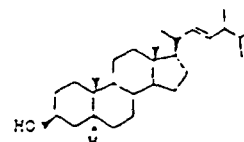
5 α -(H)-Cholestan-3 β -ol
(cholestanol)



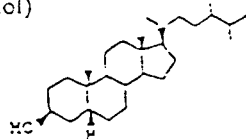
24-Méthylcholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol
(brassicastérol)



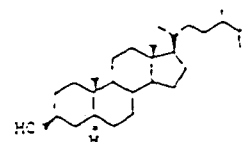
24-Méthyl-5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol
(brassicastanol)



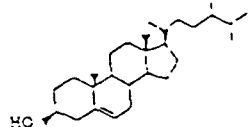
24-Ethyl-5 β -(H)-cholestan-3 β -ol
(24-éthylcoprostanol)



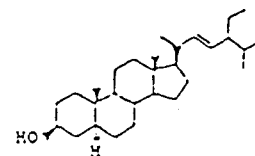
24-Méthyl-5 α -(H)-cholestan-3 β -ol
(campestanol)



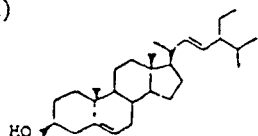
24-Méthylcholest-5-ène-3 β -ol
(campestérol)



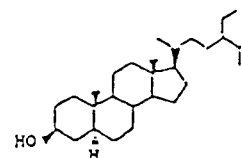
24-Ethyl-5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol
(stigmastanol)



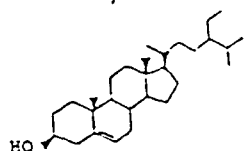
24-Ethylcholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol
(stigmastérol)



24-Ethyl-5 α -(H)-cholestan-3 β -ol
(β -sitostanol)



24-Ethylcholest-5-ène-3 β -ol
(β -sitostérol)



4 α ,23,24-Triméthyl-5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol
(dinosostérol)

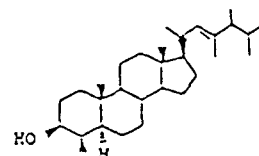


Figure 11 : Structure des 16 principaux stérols identifiés d'après Bodineau (1996) (les tirets pleins et en pointillés indiquent respectivement une orientation au dessus et en dessous du plan défini par le cycle). Pour chaque composé, le nom issu de la nomenclature est indiqué, ainsi que le nom commun correspondant (entre parenthèses).

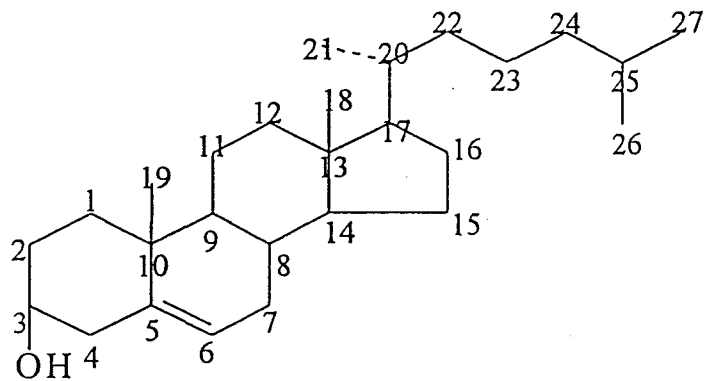
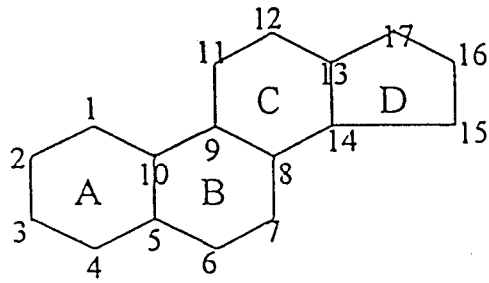


Figure 12 : Schéma d'un noyau cyclopentanophénanthrénique et numérotation des carbones pour les stérols.

longueur de leur chaîne carbonée précédée du préfixe *b* suivi de la position de chacun des substituants méthyles comptée à partir du carbone porteur de la fonction acide. Il existe aussi des acides gras possédant une fonction cyclique (Kerger *et al.*, 1986) ou époxyde, ces groupements sont numérotés par rapport à la fonction chimique principale, c'est notamment le cas du ∇ 17(9,10) acide cyclopropyl (9,10) heptadécanoïque ou du 12,13-époxy-cis-9-octadécanoïque (figure 10).

- les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (figure 10).

Ces acides gras sont désignés ci-après par une dénomination en $C_n:p\omega_x$ avec *n* qui est le nombre d'atomes de carbone sur la chaîne aliphatique, *p* le nombre de doubles liaisons et *x* la position de la première double liaison localisée entre les atomes de carbone *x* et *x*+1 comptabilisés à partir du groupe méthyle terminal et non de la fonction carboxylique (notation en ω). Pour les composés polyinsaturés présentant plusieurs doubles liaisons, celles-ci sont généralement séparées par un seul groupe CH_2 , et elles sont habituellement sous forme *cis*.

Il est possible de rencontrer aussi dans le milieu naturel des acides gras ayant une structure particulière :

- des acides gras hydroxylés présents dans les sédiments (Arts et Wainman, 1998), ou dans les bactéries (Komagata et Suzuki, 1987)
- des acides gras méthoxylés ont été identifiés dans une algue rouge la *Schizymenia dubyi* (Barnathan *et al.*, 1998).

V.3. Nomenclature des stérols

A partir de l'analyse des échantillons, nous avons identifié 13 stérols (figure 11) qui constituent un groupe très important de lipides que l'on retrouve chez tous les eucaryotes ainsi que chez les cyanophycées. Par contre les bactéries en sont dépourvues. Les stérols sont des composés dérivant d'un noyau polycyclique, appelé noyau du cyclopentanophénanthrène (figure 12). La quasi totalité des stérols et de leurs dérivés ont a substituant en 10 et en 13 (en général un groupement méthyle). Ces deux méthyles dont les carbones sont numérotés 18 et 19 (figure 12) ont la même orientation dans l'espace par rapport au plan dans lequel se localise le noyau polycyclique.

Source	Indicateur-Origine
Plancton	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Les diatomées (bacillariophycées)</i> : C20:5ω3, C16:4ω1, C16:3ω4, C16:2ω4, C16:2ω7, C22:6ω3, C20:4ω6 - <i>Les chlorophycées</i> : C18:3ω3, C18:4ω3, C16:4ω3, C16:2ω6, C16:3ω3 - <i>Les cyanophycées</i> : C18:3ω3, C18:3ω6, C18:2, C18:4 - <i>Les dinophycées</i> : C18:4, C18:5ω3, C20:5ω3, C22:6ω3 - <i>Le zooplancton</i> : C22:6ω3, C18:1ω9
Végétaux supérieurs	- acides gras saturés à longue chaîne carbonée (>C24:0) à nombre pair d'atomes de carbone
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> - acides gras branchés (ramifiés) et linéaires à 15 et 17 atomes de carbone - cyclopropyl en ∇17 et ∇19

Tableau 2 : principaux acides gras indicateurs de l'origine de la matière organique.

Nom Commun	Nom Systématique	Organismes-sources
Coprostanol	5 β -(H)-cholestan-3 β -ol	matières fécales (rejets urbains)
24-éthylcoprostanol	24-éthyl-5 β -(H)-cholestan-3 α -ol	matières fécales (rejets urbains)
Trans 22 deshydrocholestérol	cholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol	diatomées
Trans 22 déshydrocholestanol	5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol	détritique algal
Cholestérol	cholest-5-ène-3 β -ol	Ubiquiste. Abondant dans les cyanophycées, prymnésiofycées, diatomées, le zooplancton et les organismes animaux
Cholestanol	5 α -(H)-cholestan-3 β -ol	détritique
Brassicastérol	24-méthyl-cholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol	diatomées, prymnésiofycées
Brassicastanol	24-méthyl-5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol	détritique algal
Campestérol	24-méthyl-cholest-5-ène-3 β -ol	diatomées, chlorophycées, dinoflagellés, et plantes supérieures
Campestanol	24-méthyl-5 α -(H)-cholestan-3 β -ol	détritique végétal
Stigmastérol	24-éthyl-cholesta-5,22(E)-diène-3 β -ol	plantes supérieures, chlorophycées, et prymnésiofycées
Stigmastanol	24-éthyl-5 α -(H)-cholest-22(E)-ène-3 β -ol	détritique végétal
β -sitostérol	24-éthyl-cholest-5-ène-3 β -ol	plantes supérieures, chlorophycées (faible proportions), cyanophycées
β -sitostanol	24-éthyl-5 α -(H)-cholestan-3 β -ol	détritique végétal

Tableau 3 : principaux stérols indicateurs de l'origine de la matière organique.

Ils sont situés au-dessus de ce plan et ils servent comme base de référence. Tout substituant qui est situé du même côté qu'eux par rapport au plan de la molécule est dit en position *cis*, affecté d'un β et représenté avec un trait de valence plein. Les substituants situés de l'autre côté du plan de la molécule par rapport aux méthyles sont dits en position *trans*, affectés d'un α et représentés avec un trait de valence pointillé (figure 11).

Par suite de l'arrangement des cycles B, C, D (figure 12) dans l'espace et de l'existence des méthyles 18 et 19, il n'existe au niveau des carbones 11 et 12 qu'une seule possibilité d'isomérisation (β pour 11 et α pour 12).

Les stérols peuvent être divisés en sténols et stanols. Les sténols possèdent une insaturation dans un des cycles de leur structure moléculaire. Les stanols sont les stérols dont les cycles sont entièrement saturés.

Ces composés ont chacun un nom issu de la nomenclature chimique. Ils ont aussi un nom commun qui est très souvent utilisé (figure 11)

V.4. Origines des marqueurs biochimiques : acides gras et stérols

Certains acides gras et stérols sont qualifiés de marqueurs biochimiques car ils sont spécifiques des organismes qui les synthétisent (Arts et Wainman, 1998). Leur présence au sein d'un échantillon peut indiquer leur contribution en tant que source de matière organique. Cependant, les informations données par ces marqueurs ne sont pas toujours univoques. Ainsi, il est intéressant de recouper les informations fournies par plusieurs types de marqueurs, ce qui est le cas ici avec les acides gras et les stérols.

Certains acides gras indicateurs des origines de la matière organique sont regroupés dans le tableau 2.

Le tableau 3 contient les renseignements que fournissent les différents stérols sur les origines de la matière organique.

V.4.a. Marqueurs phytoplanctoniques

Certaines classes d'algues peuvent être différenciées par la prédominance de certains acides gras polyinsaturés de 16 à 22 atomes de carbone. Ainsi, on peut différencier au sein du phytoplancton (Parson *et al.*, 1961 ; Ackman *et al.*, 1968 ; Chuecas et Riley, 1969 ; Volkman, 1989) certaines classes d'algues comme les diatomées, les chlorophycées, les cyanophycées, les dinophycées bien que certains acides gras ou stérols soient ubiquistes.

- Les diatomées

L'étude des lipides dans les diatomées (bacillariophycées) a fait l'objet de nombreux travaux (Kates et Volcani, 1966 ; Pohl, 1982 ; Groth-Nard et Robert, 1993). Celles-ci ont des proportions relativement élevées en C20:5 ω 3 (Sicko-Goad *et al.*, 1988) et un rapport supérieur ou égal à 1. Les diatomées synthétisent généralement des acides gras polyinsaturés à 16 atomes de carbone (Dunstan *et al.*, 1994) comme le C16:2 ω 4, le C16:2 ω 7, le C16:3 ω 4 et le C16:4 ω 1. Les diatomées peuvent être aussi caractérisées par un rapport C22:6 ω 3/C20:5 ω 3 supérieur à 1. Pour ce qui est des stérols le trans 22 deshydrocholestérol apparaît souvent comme un stérol typique de certaines diatomées (Orcutt et Patterson, 1975) et représente parfois entre 70 et 80 % des stérols totaux (Volkman *et al.*, 1980a). C'est aussi le cas du brassicastérol, et du cholestérol qui sont aussi présents chez certaines diatomées mais étant données leurs multiples origines, il ne peuvent être considérés comme des marqueurs spécifiques.

- Les chlorophycées

Les chlorophycées sont caractérisées par des acides gras à 16 et 18 atome de carbones. Elles produisent beaucoup de C18:3 ω 3 (Scribe *et al.*, 1991), du C18:4 ω 3 (Pohl, 1982), du C16:4 ω 3 (Johns *et al.*, 1979) et du C16:2 ω 6. Ainsi, les acides gras synthétisés sont différents de ceux trouvés dans les diatomées. Elle possèdent une composition stérolique complexe sans stérol caractéristique (Iatrides *et al.*, 1983).

- Les cyanophycées

Les cyanophycées ou cyanobactéries sont incapables de synthétiser des acides gras polyinsaturés en C20:5 ω 3 et C22:6 ω 3 (Pohl, 1982; Arts et Wainman, 1998). Elles sont

toutefois capables de synthétiser du C18:2 ω 6, du C18:3 ω 3 et du C18:3 ω 6 (Napolino, 1998). Certains stérols présents dans d'autres algues peuvent être synthétisés par les cyanophycées (cyanobactéries) comme le cholestérol, le campesterol, le β -sitostérol (Volkman, 1986).

- Les dinophycées

Les dinophycées synthétisent certains acides gras et stérols spécifiques comme le C18:5 ω 3 (Napolino, 1998) et le dinostérol (Nichols *et al.*, 1983). Les autres acides gras et stérols présents dans les dinophycées sont aussi identifiés dans d'autres classes d'algues.

V.4.b. Marqueurs des végétaux supérieurs

Les végétaux supérieurs sont caractérisés par la synthèse de certains acides gras saturés à longue chaîne alkyle appelés "acides gras lourds". Ces acides gras possèdent plus de 24 atomes de carbone et les prédominants sont majoritairement à nombre pair d'atomes (C26:0, C28:0, etc...) (Kollatukudy et Walton, 1972). Ils sont typiques des cires cuticulaires des végétaux supérieurs (Kollatukudy et Walton, 1973) qui servent à protéger les feuilles vis à vis du milieu extérieur. Les végétaux supérieurs contiennent aussi de fortes proportions en C18:2 ω 6 et en C18:3 ω 3 (Matsuda et Koyama, 1977). Cependant ces composés sont synthétisés aussi par d'autres catégories de végétaux. Par contre, les organismes aquatiques ne synthétisent généralement pas d'acides gras possédant plus de 24 atomes de carbone. Ainsi, on utilisera les acides gras lourds comme marqueurs des végétaux supérieurs en majorité terrestres. Pour ce qui est des stérols, ces organismes synthétisent pour l'essentiel du β -sitostérol (Huang et Meinschein, 1976) et un peu de stigmastérol et de campesterol.

V.4.c. Marqueurs des bactéries

La plupart des bactéries contiennent des acides gras saturés à 16 et 18 atomes de carbone et des monoinsaturés en ω 9 et ω 7 (Volkman *et al.*, 1980b ; Gillan *et al.*, 1981). Les bactéries synthétisent des cyclopropyl en ∇ 17 et ∇ 19 (Volkman et Johns, 1977 ; Parkes et Taylors, 1983) et des isomères en C18:1 où le C18:1 ω 7 (Perry *et al.*, 1979 ; Parkers et Taylors, 1983) est typiquement dominant. Ainsi le rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 est très

supérieur à 1 dans les bactéries et pourra ainsi être utilisé avec néanmoins beaucoup de précautions comme marqueur bactérien (Volkman et Johns, 1977 ; Gillan et Hogg, 1984)

On peut subdiviser les bactéries en deux catégories, les gram positifs et les gram négatifs. Les bactéries gram positif concentrent les lipides dans le plasma de la membrane et sont caractérisées par des acides gras saturés en C15:0 et ramifiés comme l'*iso* C15:0, l'*antéiso* C15:0, l'*antéiso* C17:0, l'*iso* C17:0 (Gillan *et al.*, 1981 ; Komagata et Suzuki, 1987 ; Findlay et Dobbs, 1993). Par contre, pour les bactéries gram négatif la concentration des lipides est beaucoup plus complexe. Elles sont caractérisées par certains acides gras de type cyclopropanique et des acides gras hydroxylés sur les carbones deux ou trois (Komagata et Suzuki, 1987).

Par contre, il apparaît que les bactéries sont incapables de synthétiser des alcools gras, des stérols, des acides gras polyinsaturés et des acides gras saturés à plus de vingt atomes de carbone. Les bactéries hétérotrophes sont capables de réduire les stérols en stanols en conditions anaérobies.

V.4.d. Marqueurs des rejets urbains et fécaux

Les lipides des rejets urbains ont deux origines, les fèces et les eaux de cuisines. La fraction des fèces est dominée par les acides gras saturés en C16:0 et C18:0 (Harvey *et al.*, 1987 ; Quéméneur, 1992 ; Claustre *et al.*, 1992) et par le monoinsaturé en C18:1 ω 9 (Quéméneur et Marty, 1994).

D'après Quéméneur (1992), les eaux de cuisines rejetées contiennent des huiles végétales abondantes en C16:0, C18:1 ω 9, C18:2 ω 6 et en β -sitostérol, les graisses animales contiennent du C16:0, C18:0, C18:2 ω 6 et du cholestérol. Le coprostanol est caractéristique des excréments des mammifères marins (Venkatesan et Kaplan, 1987) car il provient de la transformation par les bactéries du cholestérol dans les intestins. Par contre, il est totalement absent des pelotes fécales du zooplancton (Prahl *et al.*, 1984).

Les fèces peuvent aussi contenir du 24-éthyl-coprostanol et du 24-méthyl-coprostanol qui sont des β stanols provenant de l'hydrogénation respectivement du β -sitostérol et du campestérol par les entérobactéries (Quéméneur, 1992).

V.5. Les acides gras et les stérols en tant que marqueurs trophiques

L'élucidation des relations trophiques et l'identification des sources et des puits de matière organique sont primordiales pour comprendre la dynamique des écosystèmes aquatiques (Pimm *et al.*, 1991). Les relations trophiques, c'est à dire les relations proie-prédateur peuvent être étudiées selon différentes approches telles que l'observation au microscope des contenus stomacaux, l'utilisation des isotopes stables (Peterson et Fry, 1987).

Une molécule est considérée comme marqueur trophique si elle est spécifique d'un type "d'organismes sources" et si elle est suffisamment stable d'un point de vue métabolique pour garder sa structure lors de la consommation de "l'organisme source" pour un prédateur. Les stérols et surtout les acides gras peuvent être utilisés dans ce but. Ceux-ci ont été ainsi utilisés comme marqueurs des chaînes alimentaires tant en milieu marin (voir par exemple : Gatten *et al.*, 1983 ; Graeve *et al.*, 1994a) qu'en eau douce (Desvillettes *et al.*, 1994, 1997a).

Les algues phytoplanctoniques synthétisent de *novo* des acides gras polyinsaturés en $\omega 3$, tels le C20:5 $\omega 3$ et le C22:6 $\omega 3$, et en $\omega 6$, en particulier le C20:4 $\omega 6$. Tandis que les organismes animaux ont des capacités limitées dans ce domaine (Sargent et White, 1981). Des études menées par Kamazawa *al.*, (1979) sur la synthèse des acides gras en utilisant l'acide linoléique C18:3 $\omega 3$ marqué au carbone quatorze ont montré que certains poissons et crustacés marins ont la capacité de transformer par élongation le C18:3 $\omega 3$ en C20:5 $\omega 3$ et en C22:6 $\omega 3$ (figure 13) *via* divers intermédiaires comme le C20:4 $\omega 3$ ou le C22:5 $\omega 3$ (figure 13). Enfin, le copépode d'eau douce *Eucylops serrulatus* semble avoir la capacité de transformer le C18:3 $\omega 3$, issu d'une alimentation par des chlorophycées, en C22:6 $\omega 3$ qui est alors transféré dans les phospholipides (Desvillettes *et al.*, 1997b).

Le précurseur C18:3 $\omega 3$ ne peut pas être synthétisé par les animaux marins car ils sont incapables de placer une double liaison en $\omega 3$ ou $\omega 6$. Il est donc issu d'une alimentation phytoplanctonique.

Sargent et White (1981) ont aussi mis en évidence la synthèse du C20:4 $\omega 6$ à partir du C18:2 $\omega 6$ (figure 13). Le C18:4 $\omega 6$ peut être synthétisé en faible proportion mais aussi provenir d'une ingestion directe de phytoplancton par les copépodes (Hagen *et al.*, 1993).

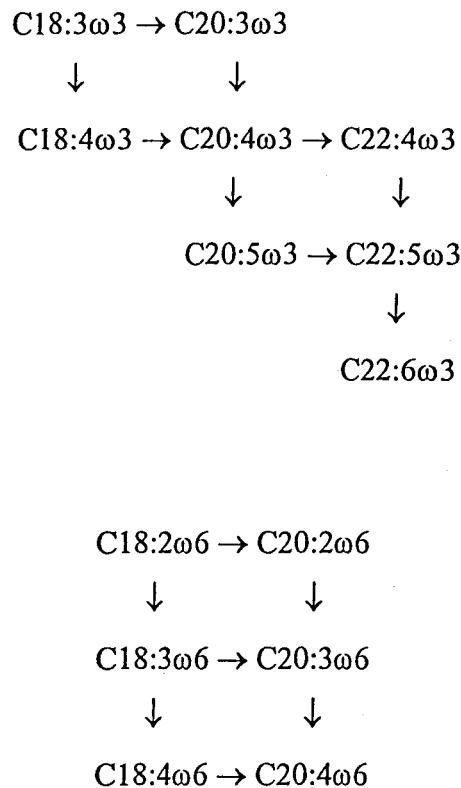


Figure 13 : schéma de synthèse des acides gras dans les animaux marins proposé par Sargent et White (1981).

Cependant, le pourcentage d'acides gras transformés de cette façon est peu important. Ainsi les daphnies, *Daphnia pulex* et *Daphnia magna* synthétisent moins de 2 % de leurs acides gras. Les 98 % restant proviennent directement de leur régime alimentaire (Goulden *et al.*, 1998). Il en est globalement de même pour les copépodes. Aussi, il est couramment admis que les acides gras polyinsaturés trouvés chez les organismes sont principalement issus de la nourriture absorbée, c'est à dire ici des algues phytoplanctoniques (Kattner *et al.*, 1981 ; Schnack *et al.*, 1985 ; Graeve *et al.*, 1994b).

De même peut-on s'attendre à ce qu'une éventuelle absorption massive de bactéries se traduise par un pourcentage important d'acides gras ramifiés dans les organismes qui les ont absorbés. Ceci a été mis en évidence, en laboratoire sur des ciliés nourris à partir de bactéries, et sur des copépodes (*Acartia tonsa*) nourris à partir de ces mêmes ciliés (Ederington *et al.*, 1995).

Il a aussi été mis en évidence que les acides gras issus de la nourriture sont principalement stockés dans les lipides de réserve (Lee *et al.*, 1971) qui sont constitués des triacylglycérols et des esters cuticulaires. Les lipides polaires du fait de leur rôle structural

présentent une faible variabilité de leur composition ceci quelles que soient les conditions physiologiques des organismes et de leur environnement (Laureillard *et al.*, 1990 et références citées).

Pour ce qui est des stérols, il est généralement admis que les organismes zooplanctoniques ne peuvent les synthétiser et donc qu'ils proviennent essentiellement de la nourriture. Beaucoup de travaux ont été réalisés sur les crustacés marins par A. Kanazawa et collaborateurs (Faculté de pêcheries, Université de Kagoshima, Japon). Ils ont montré que certains stérols présents chez ces animaux provenaient de leur nourriture. C'est le cas du brassicastérol chez la moule et l'huître (Kamazawa *et al.*, 1971 et références citées). Néanmoins, le principal stérol chez les animaux, les copépodes et les crustacés (Goad, 1981) est le cholestérol. Outre une prise directe par voie alimentaire, une possibilité de transformation des phytostérols en cholestérol existe par désalkylation (Goad, 1981).

Matériel et Méthodes

I. Introduction

Dans un premier temps, les techniques et conditions expérimentales utilisées pour les prélèvements en milieu estuarien seront décrites. Puis, les techniques de préparation et de dosage utilisées pour l'analyse des constituants élémentaires (carbone et azote organiques particulaires), des pigments chlorophylliens (chlorophylle a et phéopigments) et des lipides (acides gras (AG) et stérols (ST)) seront successivement détaillées. La fin de ce chapitre sera consacrée au développement de méthodes d'identification de structures d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (Béghin et *al.*, 1998).

II. Prélèvement des échantillons

Les conditions de prélèvement et la stratégie d'échantillonnage sont primordiales pour l'acquisition de résultats cohérents. Les phases de prélèvement, d'échantillonnage, de conservation et d'analyse sont indissociables et doivent toutes être réalisées selon un protocole rigoureux.

Le prélèvement de l'eau *in situ* est réalisé avec des bouteilles de type Niskin en polychlorure de vinyle (P.V.C.). Chaque échantillon est préalablement préfiltré sur un tamis de maille 200 µm afin de retirer les grosses particules dont la distribution aléatoire pourrait nuire à la reproductibilité des mesures. En estuaire, le milieu étant relativement turbide, de faibles volumes compris entre 100 et 500 ml sont filtrés sur des filtres Whatman GF/C ou GF/F en fibres de verre.

Pour le prélèvement du carbone et de l'azote organiques particulaires (COP et NOP), on utilise des filtres GF/F de porosité moyenne 0,7 µm de diamètre 25 mm préalablement grillés à 450 °C au four pendant 24 h, ceci afin d'éliminer toute trace éventuelle de matière organique qui pourrait perturber l'analyse. Après filtration, les filtres sont ensuite conservés au congélateur avant d'être analysés.

En ce qui concerne la chlorophylle-a, des filtres de type GF/C Whatman de porosité moyenne 1,2 μm et de diamètre 47 mm sont utilisés. Après filtration, 1 à 2 mL de MgCO_3 à 1 % est déposé sur le filtre afin d'éviter une éventuelle acidification de la chlorophylle-a qui entraînerait sa dégradation en phéopigments (Aminot et Chaussepied, 1983). Les filtres sont ensuite conservés à l'abri de la lumière au congélateur.

Les copépodes adultes ont été récoltés à l'aide d'un filet WP2 de maille 200 μm et récupérés après tamisage sur 500 μm . Une partie des copépodes a été conservée dans l'azote liquide afin d'effectuer une analyse des lipides (AG et ST), du carbone et de l'azote organiques particulaires. L'autre partie a été utilisée à bord afin de réaliser des incubations (récupération des pelotes fécales).

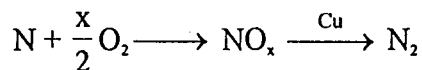
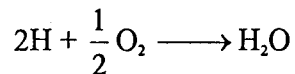
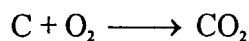
Les crevettes blanches ont été récupérées grâce à un filet de 200 μm traîné environ trois minutes. Une partie est conservée au congélateur avant d'effectuer des prélèvements d'estomacs tandis qu'une seconde fraction est utilisée pour la réalisation d'incubations (récupération des fèces).

III. Méthode d'analyse du carbone et de l'azote organiques

Le carbone présent dans les matières en suspension (MES), les copépodes et les estomacs de crevettes sont sous formes organique et inorganique. Avant l'analyse, il est nécessaire d'éliminer le carbone inorganique. Pour cela, la matière particulaire de l'eau prélevée (sur filtre), les fèces des copépodes et des crevettes (sur filtre), les copépodes (dans des piluliers en verre) et les estomacs de crevettes (dans des piluliers en verre) sont mis en présence de vapeur d'acide chlorhydrique dans un dessiccateur pendant 48 h. Les échantillons sont ensuite séchés à 60 °C dans une étuve pendant une nuit afin d'éliminer les vapeurs de HCl.

Le dosage du COP et NOP contenus sur les filtres ou dans les organismes est réalisé grâce à un analyseur élémentaire CHNS de type LECO 932. L'échantillon à analyser est entouré d'une feuille d'étain lorsqu'il s'agit d'un filtre (eau et fèces) ou introduit dans une capsule d'étain lorsqu'il est sous forme de particules (copépodes et estomacs de crevettes). L'échantillon est introduit dans un four à 950°C (tube en quartz) à l'aide d'un carrousel. La réaction d'oxydation de l'étain est très exothermique, la température de l'échantillon peut

atteindre 1800 °C. Les composés organiques vont être oxydés en présence d'oxygène 20 cm³ pour former différents oxydes selon les réactions suivantes :



Le carbone, l'hydrogène, l'azote et le soufre sont transformés en oxydes. Les oxydes d'azote sont ensuite réduits par le cuivre en N₂. Les différents composés (CO₂, H₂O, N₂, SO₂) sont alors spécifiquement analysés par des cellules de type infra-rouge, excepté N₂ qui est analysé par une cellule de type catharométrique.

IV. Dosage de la chlorophylle-a et des phéopigments

Après filtration de l'eau de mer qui a permis la concentration du matériel particulaire, le filtre est immergé et broyé dans 10 mL d'une solution d'acétone à 90 % pendant 24 h à l'abri de la lumière au réfrigérateur à 4 °C (Aminot et Chaussepied, 1983). La chlorophylle-a (figure 14) et ses produits de dégradation que sont les phéopigments (figures 14 et 15) sont dosés par la méthode monochromatique de Lorenzen (1967).

On mesure les absorbances des extraits non acidifiés aux longueurs d'onde 665 nm (Ab^{na}_{665}) et 750 nm (Ab^{na}_{750}) à l'aide d'un spectromètre Uvikon 860 Kontron Instruments. Ensuite, on acidifie l'échantillon avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (0,3 mol/L) directement dans la cuve, puis on attend 2 à 3 minutes. On mesure alors les absorbances des extraits acidifiés à 665 nm (Ab^a_{665}) et 750 nm (Ab^a_{750}) (Aminot et Chaussepied, 1983). Cette technique permet le dosage global de la chlorophylle-a d'une part et des phéopigments d'autre part. Les concentrations sont calculées d'après les équations de Lorenzen (1967) après détermination des absorbances avant et après acidification à 665 nm. Les blancs de cuve à 665 nm (bc_{665}) et à 750 nm (bc_{750}) sont aussi déterminés.

- L'absorbance à 665 nm avant acidification est notée :

$$A_{665}^{na} = (Ab_{665}^{na} - bc_{665}) - (Ab_{750}^{na} - bc_{750})$$

- L'absorbance à 665 nm après acidification est notée :

$$A_{665}^a = (Ab_{665}^a - bc_{665}) - (Ab_{750}^a - bc_{750})$$

Les concentrations de chlorophylle-a et de phéopigments se calculent d'après les relations ci-dessous:

$$\text{Chlorophylle - a (mg/m}^3\text{)} = \frac{26,7 * (A_{665}^{na} - A_{665}^a) * V}{v * l}$$

$$\text{Phéopigments (mg/m}^3\text{)} = \frac{26,7 * (1,7 * A_{665}^a - A_{665}^{na}) * V}{v * l}$$

V le volume d'eau filtré en litre (L), v le volume de solvant d'extraction (mL), l le trajet optique de la cuve de mesure (cm).

V. Dosage des acides gras (AG) et des stérols (ST)

Le dosage des acides gras et des stérols est une succession de 4 étapes :

- extraction des lipides totaux.
- méthylation (transestérification) des AG.
- préséparation des classes de lipides par chromatographie liquide haute performance (HPLC).
- identification et quantification des AG et ST par chromatographie gazeuse (CG).

V.1. Extraction des lipides totaux

L'extraction des lipides est réalisée selon la méthode de Bligh et Dyer (1959) qui est couramment utilisée en océanographie. Elle permet d'obtenir un rendement d'extraction supérieur à 90 % et se trouve être reproductible (Moal *et al.*, 1985). On forme dans un premier

temps un mélange monophasique eau/méthanol/chloroforme dans les proportions (1/2/1). Ce mélange permet l'extraction des lipides à l'aide des ultrasons (20 minutes). De l'eau et du chloroforme sont ajoutés pour former un mélange biphasique (2/2/2). Les lipides vont migrer dans le chloroforme alors que les composés à caractère hydrophyle restent dans la phase eau-méthanol. La phase chloroformée est récupérée et une deuxième extraction est réalisée par un ajout de chloroforme. Les phases chloroformées sont transvasées dans un tube étiré en pointe. Avant l'extraction, une quantité connue d'étalon interne, le C23:0 (acide tricosanoïque) présent en très faible quantité dans le milieu naturel est ajouté afin de tenir compte des éventuelles pertes qui peuvent avoir lieu lors du protocole analytique.

V.2. Méthylation (transestérification) des AG

L'extrait chloroformique est concentré au rotavapeur puis évaporé à sec sous courant d'azote. Il est transméthylé selon la méthode de Metcalf et Schmitz (1961), Metcalf *et al.*, (1966). Les AG présents dans les lipides complexes vont être directement transformés en esters méthyliques et pour cela on ajoute 1 mL d'une solution de méthanol à 13 % en BF₃. L'échantillon est alors chauffé au bain de sable à 100 °C pendant 10 min. Après refroidissement 1 mL d'eau pure à pH < 2, préalablement extraite au chloroforme, et 1 mL de chloroforme sont ajoutés à l'échantillon. Celui-ci est agité et centrifugé pendant 5 min. à 1500 tours/min. Les esters méthyliques d'acides gras, les stérols et les autres composés hydrophobes éventuellement présents migrent dans la phase chloroformique tandis que la phase aqueuse est éliminée. Deux lavages à l'eau pure (2 mL) sont nécessaires afin d'enlever l'excès de BF₃. Les tubes en pointe vont être mis au congélateur pour solidifier la phase aqueuse surnageante. Le chloroforme est alors récupéré et transvasé dans un micro-tube et évaporé à sec sous courant d'azote. 100 µL d'un mélange isopropanol-hexane (15/85) sont ajoutés avant injection en chromatographie liquide haute performance (HPLC). On peut noter que la transméthylation est réalisée avant la préséparation par HPLC. Elle permet d'une part de libérer les AG mais aussi, puisqu'ils sont sous forme d'esters méthyliques de diminuer leurs différences de polarité. Ceci permettra de les récupérer collectivement en une seule fraction lors de l'étape suivante.

V.3. Préséparation des classes de lipides par HPLC

La méthode de préséparation des classes de composés est similaire à celle mise au point par Hennion *et al.* (1983). Elle a été utilisée notamment par Thoumelin (1988), Quéménéur (1992) et Bodineau (1996). Elle est basée sur l'utilisation de phases stationnaires polaires. Les composés du mélange sont séparés sur deux colonnes montées en série de type Lichrosorb diol 10 μm puis Lichrosorb Si-60 5 μm . La colonne portant les groupements diol sépare les composés les plus polaires (alcools et stérols) des moins polaires (esters méthyliques) et des apolaires (alcanes). La colonne de silice améliore la séparation entre les esters d'acides gras et les alcanes. La chromatographie liquide haute performance que nous avons utilisée possède un injecteur Waters de type U6K dont le volume d'injection peut varier entre 1 μl et 2 mL, une pompe monopiston de modèle 9010 qui permet de travailler en gradient de solvants. La phase mobile utilisée est un mélange d'hexane et d'isopropanol dont la proportion en isopropanol varie entre 0 et 15 % (figure 16).

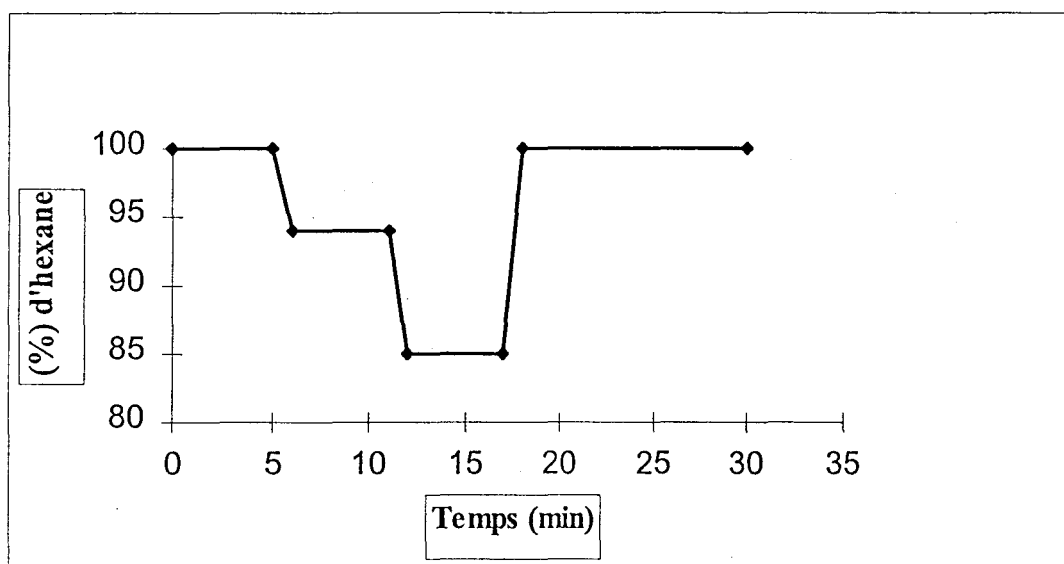


Figure 16 : gradient d'élution utilisé lors de la séparation par HPLC.

Le spectromètre Waters de modèle 841 de type Lambda Max, peut travailler en ultra violet. Le détecteur est réglé sur 206 nm ce qui correspond à l'absorption des liaisons C=C.

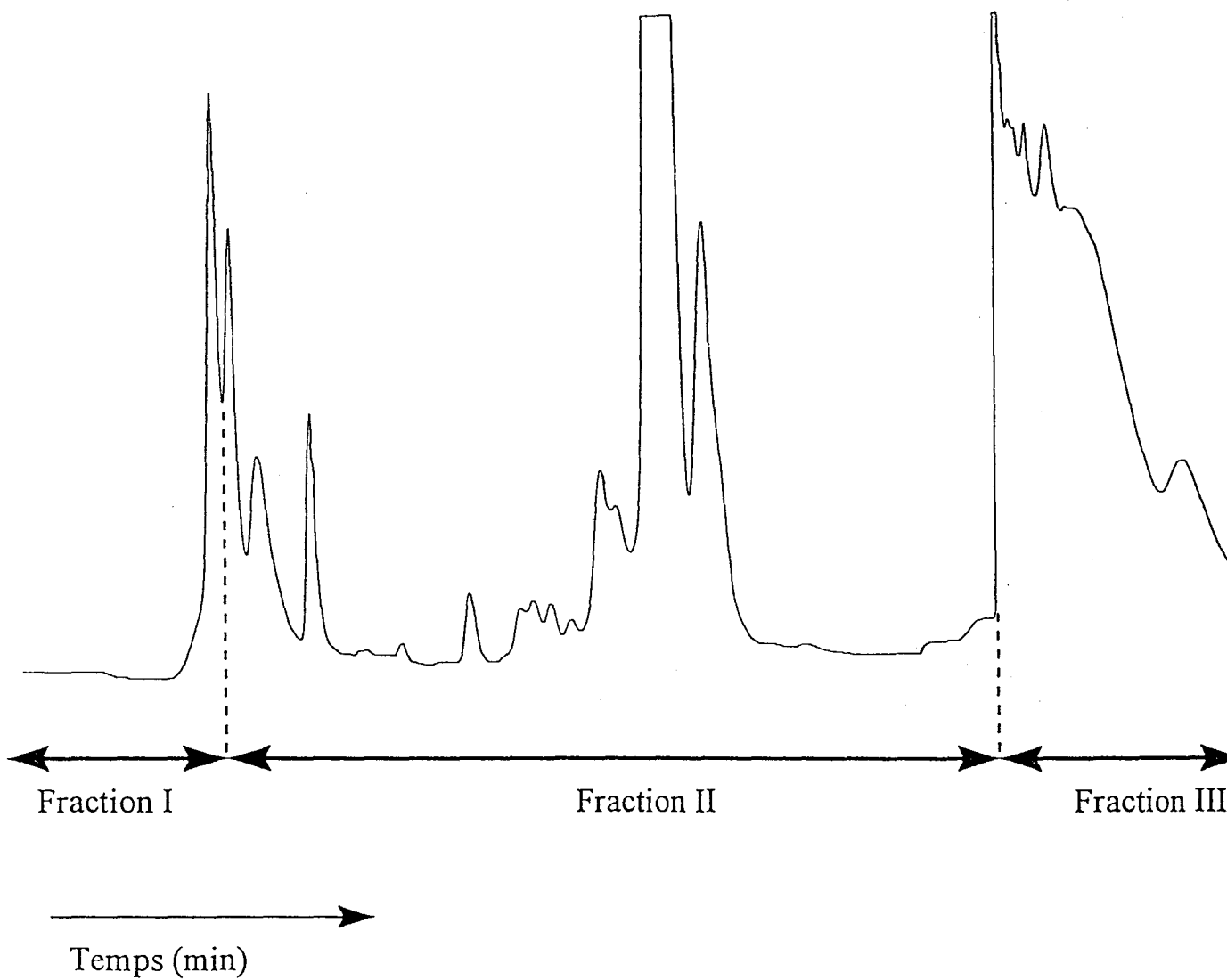


Figure 17 : Séparation par H.P.L.C. des hydrocarbures, des acides gras méthylés, des alcools gras et des stérols.

Lors de la séparation trois fractions sont récupérées (figure 17) :

- la fraction I contient les hydrocarbures saturés, insaturés et aromatiques.
- la fraction II contient les esters méthyliques saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Elle peut contenir aussi les phtalates ou d'autres composés qui donnent des pics intenses en ultra violet mais qui ne sont pas forcément détectés en chromatographie gazeuse.
- la fraction III regroupe les produits les plus polaires comme les alcools gras et les stérols.

Dans les échantillons issus du milieu naturel, les composés recherchés n'absorbent pas forcément de manière notable en ultra violet. C'est notamment le cas des acides gras saturés et monoinsaturés. Aussi, les conditions de séparation ont été mises au point à partir de solutions standard concentrées. Les AG et ST récupérés respectivement dans les fractions II et III peuvent ensuite être injectés en CG.

V.4. Identification et quantification des AG et ST par CG

L'appareil utilisé pour l'analyse et la quantification des AG et ST est un chromatographe Hewlett Packard 5890 série II muni d'un injecteur "on column" et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), qui est relié à un intégrateur Hewlett Packard HP 3396 série II. Le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène, l'azote jouant le rôle de gaz d'appoint au niveau du détecteur.

V.4.a. Dosage des acides gras

Les acides gras sont séparés sur une colonne capillaire garnie d'une phase polaire FFAP (Free Fatty Acid Phase). Les conditions chromatographiques sont présentées dans les tableaux 4 et 5.

Colonne	Phase	FFAP
	Longueur (m)	25
	Diamètre interne (mm)	0,32
	Débit d'hydrogène (mL/min)	4
	Pression en tête de colonne (Bar)	0,52
Détecteur	Débit d'hydrogène (mL/min)	30
	Débit d'air (mL/min)	430
	Température du détecteur (°C)	240

Tableau 4 : conditions chromatographiques pour les acides gras méthylés (MeAG).

Palier numéro	Température (°C)	Vitesse de montée de température (°C/min)	Durée du palier (min)
1	60	30	0
2	150	3	2
3	230	-	30

Tableau 5 : programmation de température pour les acides gras méthylés (MeAG).

L'intégrateur a été calibré (nom du composé, temps de rétention, facteur de réponse) par injection d'une solution standard contenant des MeAG en concentrations individuelles connues. L'identification est réalisée par comparaison des temps de rétention des MeAG présents dans l'échantillon avec ceux présents dans une solution standard. La quantification est réalisée par rapport au MeAG C23:0 qui sert de standard interne. La fraction II récupérée lors de la HPLC est concentrée jusqu'à un volume d'environ 200 μ L et 2 μ L sont injectés dans le CG. La gamme des AG identifiés va du C14:0 au C32:0. Cependant, tous les composés présents dans le milieu naturel ne sont pas disponibles sous forme de solution standard. Aussi, les acides gras inconnus ont-ils été identifiés par un détecteur de masse associé à la CG. Les techniques d'identification sont expliquées à la fin de ce chapitre.

V.4.b. Dosage des stérols

La fraction HPLC numéro III (figure 17) contenant les stérols est évaporée en grande partie au rotavapeur puis à sec sous courant d'azote. 25 μ L de cholestane (solution à 500 mg/L) sont ajoutés à la solution comme standard interne. Il n'a pu être ajouté au début de la manipulation

comme le C23:0 car il serait récupéré dans la fraction numéro I avec les alcanes. Afin d'obtenir une bonne séparation des stérols, il a été nécessaire de les silyler. Ainsi, 40 µL de BSTFA (N,O-bis(triméthylsilyl) trifluoroacétamide) sont ajoutés à l'extrait évaporé à sec, puis l'échantillon est mis à l'étuve environ 2 h à 60 °C (Bodineau, 1996). Après refroidissement de l'extrait, 160 µl d'hexane sont ajoutés. La silylation a pour but de rendre les stérols moins polaires en remplaçant l'hydrogène de la fonction alcool porté par le carbone 3 (figure 13) par un groupement $-Si(CH_3)_3$. 2 µL de l'échantillon sont injectés en CPG sous les conditions analytiques suivantes tableau 6 et 7.

Colonne	Phase	HP5
	Longueur (m)	30
	Diamètre interne (mm)	0,25
	Débit d'hydrogène (mL/min)	2
Détecteur	Pression en tête de colonne (Bar)	0,82
	Débit d'hydrogène (mL/min)	30
	Débit d'air (mL/min)	430
	Température du détecteur (°C)	300

Tableau 6 : conditions chromatographiques pour les stérols silylés.

Palier numéro	Température (°C)	Vitesse de montée de température (°C/min)	Durée du palier (min)
1	60	30	0
2	200	10	3
3	250	3	1
4	290	-	10

Tableau 7: programmation de température pour les stérols silylés.

VI. Développement de méthodes d'identification par CG/SM

Le chromatographe utilisé est de marque Hewlett Packard 5890 série II équipé d'un injecteur "on column" et d'un détecteur de masse Hewlett Packard 5972. L'analyse des AG et des ST est effectuée respectivement sur une colonne capillaire garnie d'une phase de type BPX70 ou BPX5 dont les caractéristiques sont décrites dans le tableau 8.

Colonne	BPX70	BPX5
Polarité de la phase	Polaire	Apolaire
Longueur (m)	25	25
Diamètre interne (mm)	0,22	0,22
Pression en tête de colonne (kPa)	145	145
Température du détecteur (°C)	270	300

Tableau 8 : conditions chromatographiques pour l'analyse des AG et ST.

Les programmes de température utilisés pour l'identification des AG et ST en CG-SM sont identiques à ceux utilisés avec le CG muni du détecteur à ionisation de flamme (FID) (Tableaux 5 et 7). Cependant, le gaz vecteur est l'hélium. Le potentiel d'ionisation fixe du détecteur de masse est de 70 eV. La fragmentation des molécules séparées par CG et entrant dans le détecteur se fait par impact électronique (E.I.).

A l'issue d'une injection en CG-SM, les données sont réparties selon trois axes, le temps de sortie de la colonne, la gamme de masse balayée, et l'intensité du signal. On peut obtenir à partir de ces données un spectre chromatographique reconstitué (ou Total Ion Chromatogram (TIC)) qui est la représentation de l'intensité du signal en fonction du temps de sortie de la colonne ; dans ce cas les intensités de tous les ions correspondant à un balayage sont sommées. On peut aussi obtenir un spectre de masse qui correspond à l'intensité des différents ions issus de la fragmentation en fonction de la gamme de masse (en réalité m/z balayée) et ceci en chaque point du spectre reconstitué.

L'identification des composés inconnus peut alors être réalisée de deux manières :

- soit en comparant le spectre de masse du composé inconnu à des spectres de références contenus dans la bibliothèque, celle élaborée par le N.I.S.T. (National Institute of Standard and Technology, U.S.A.) qui contient 75 000 spectres. La comparaison est effectuée à l'aide de l'algorithme de Mac Lafferty qui vérifie que les principaux pics d'un spectre de référence donné sont présents dans celui du composé inconnu. Ce type de recherche est qualifié de "recherche inverse" (reverse search). Un indice de qualité est alors affecté et celui-ci est fonction de la similitude entre les deux spectres. Pour un composé inconnu, le logiciel

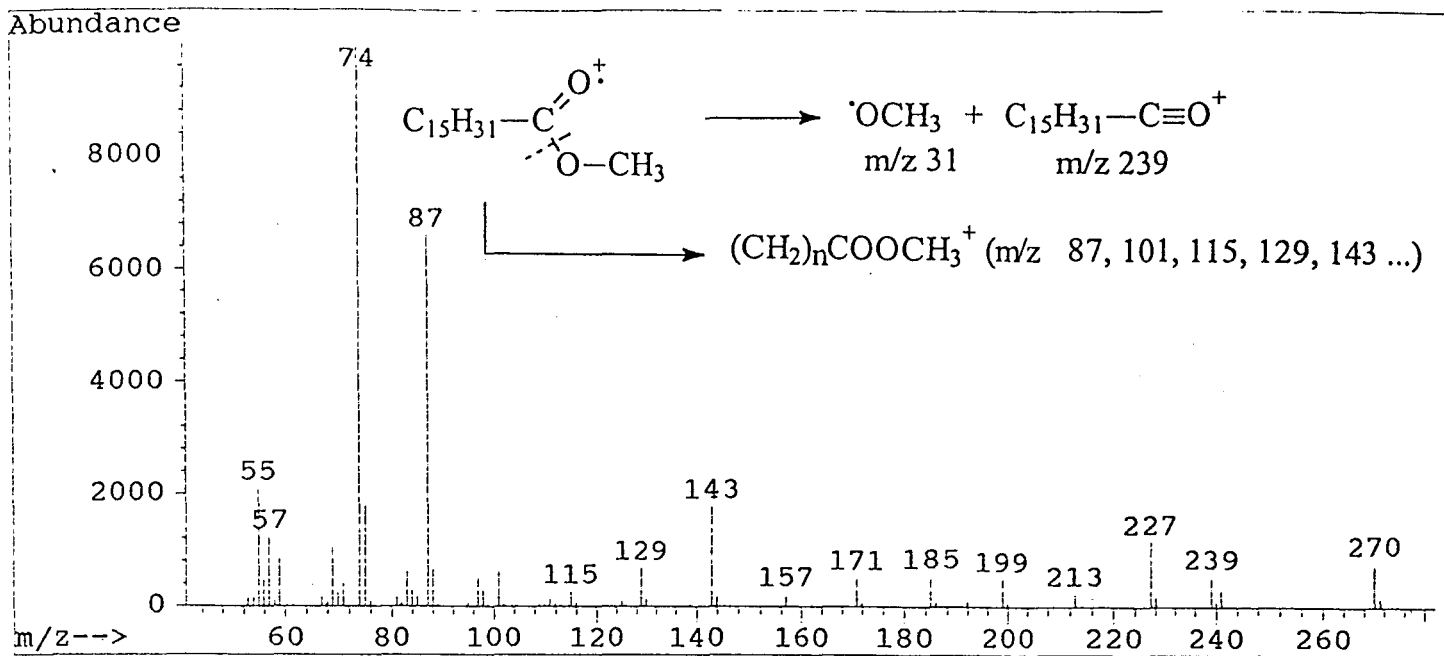


Figure 18 : Spectre de masse du C16:0 sous forme d'ester méthylique.

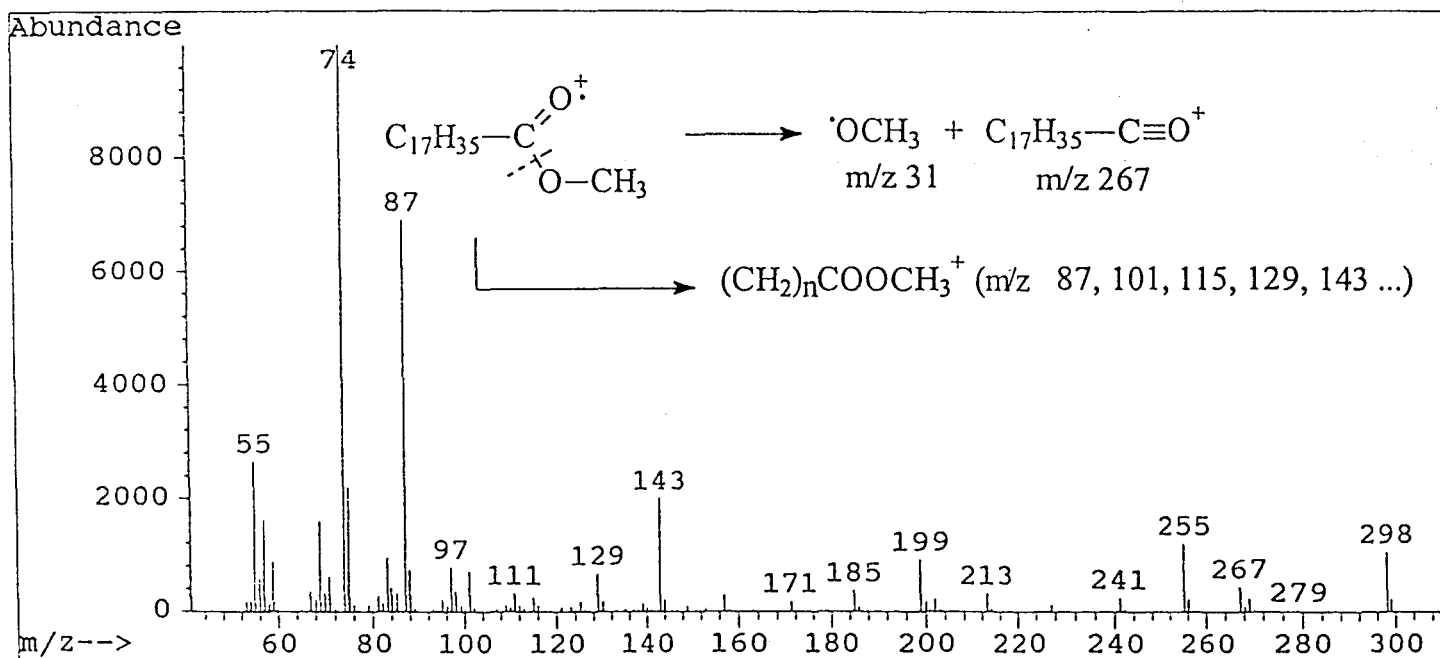


Figure 19 : Spectre de masse du C18:0 sous forme d'ester méthylique.

Chemstation (Hewlett Packard) propose une série de solutions classées selon la décroissance de l'indice de qualité.

- soit par l'identification des ions issus de la fragmentation de la molécule. Cette option est à priori intéressante car tous les composés ne sont pas dans la bibliothèque pour les acides gras. Cependant, toutes les molécules n'ont pas forcément un spectre de masse caractéristique pour être identifiable par impact électronique.

VI.1. Etude des spectres de masse d'acides gras méthylés

Nous allons considérer successivement les différentes classes d'acides gras méthylés (MeAG) ainsi que les divers problèmes qui se posent quant à leur identification.

VI.1.a. Les MeAG saturés

Les esters méthyliques d'acides gras saturés à chaîne linéaire sont très facilement identifiables par spectrométrie de masse. Ils sont caractérisés par une série de pics correspondant aux fragments $(\text{CH}_2)_n\text{COOCH}_3^+$ ($m/z = 87, 101, 115, \text{etc.}$). Les spectres de masse des acides gras méthylés C16:0 et C18:0 sont représentés sur les figures 18 et 19. Le pic moléculaire, généralement bien défini a un rapport, m/z égal à 270 pour l'ester méthylique du C16:0 à 298 pour celui du C18:0. Il est accompagné d'un pic à $M-31$ dû à la perte d'un groupement CH_3O^+ ; on observe ainsi le fragment de m/z égal à 239 (m/z) sur la figure 18 et à 267 sur la figure 19. Le pic de m/z égal à 74 est généralement prédominant pour les AG saturés, il est dû à un réarrangement de Mac Lafferty (figure 20).

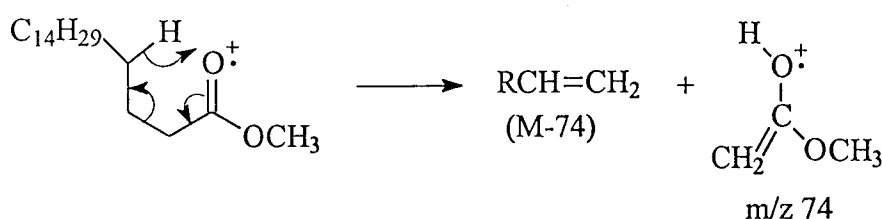


Figure 20 : réarrangement de Mac Lafferty.

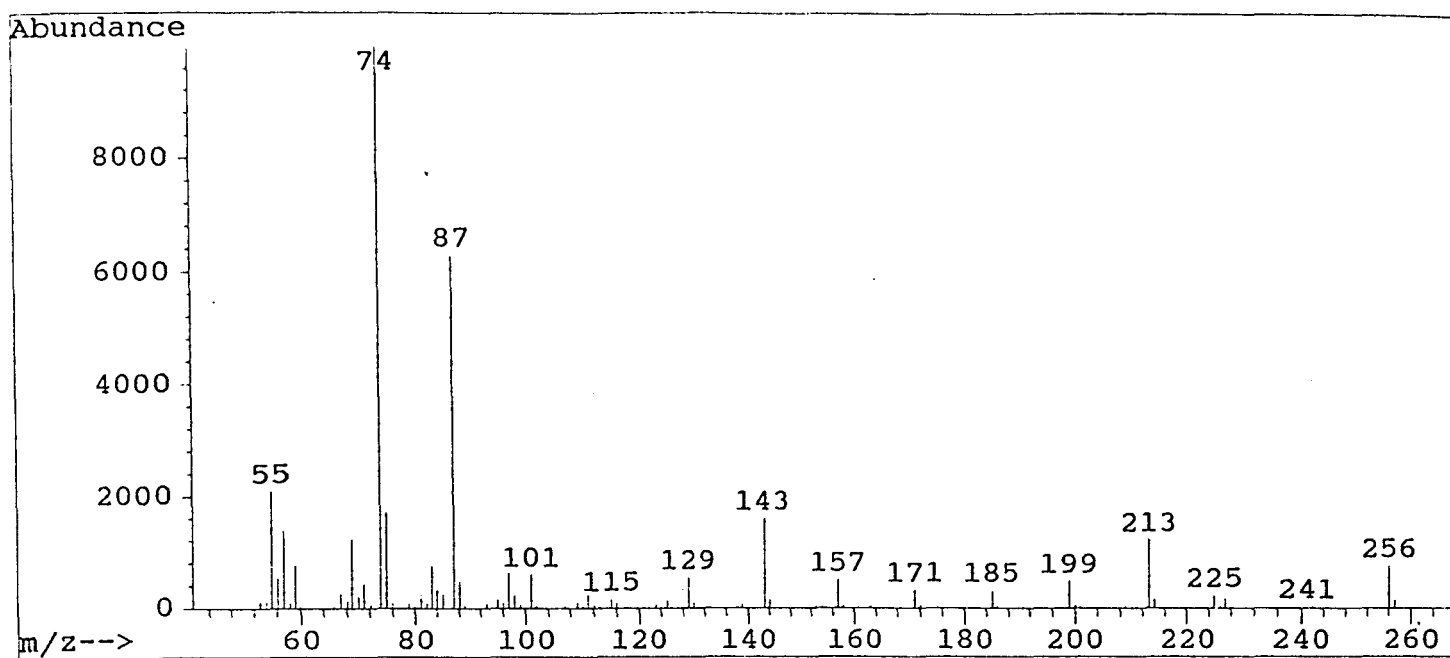


Figure 21 : Spectre de masse de l'*iso* C15:0 sous forme d'ester méthylique.

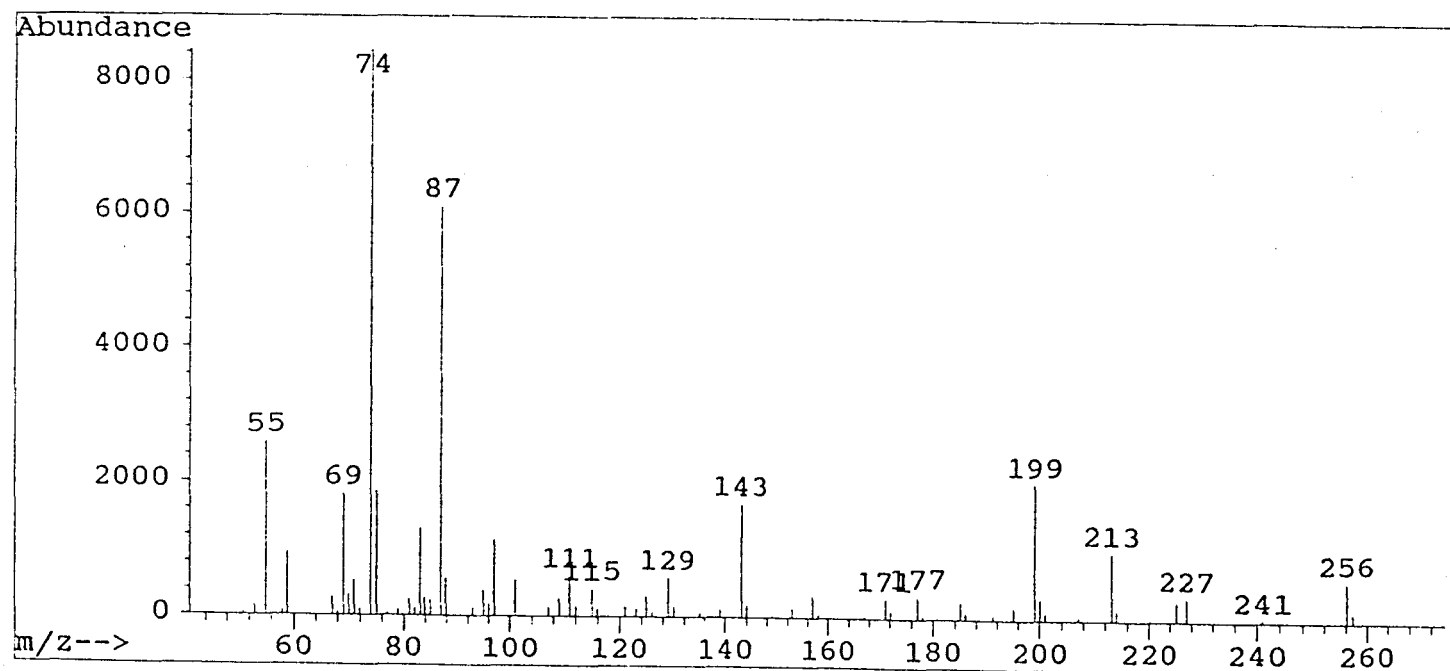


Figure 22 : Spectre de masse de l'*antéiso* C15:0 sous forme d'ester méthylique.

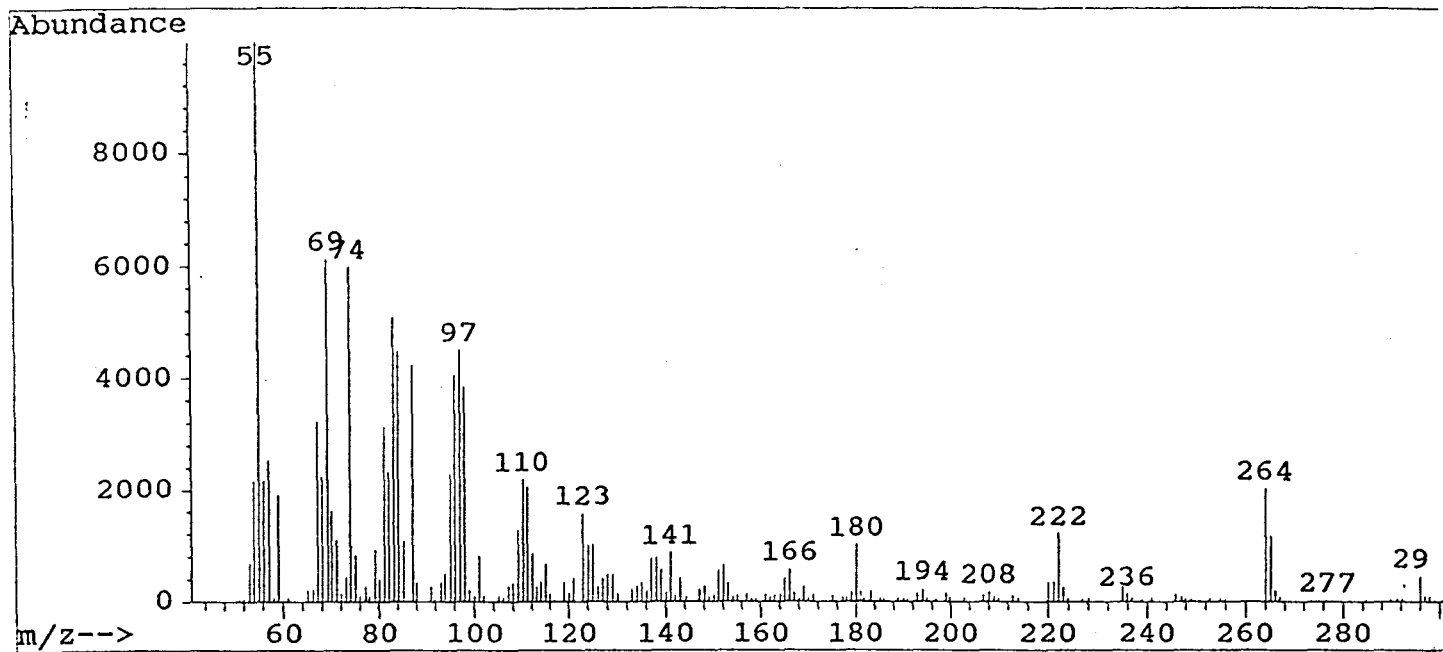


Figure 23 : Spectre de masse du C18:1 ω 9 sous forme d'ester méthylique.

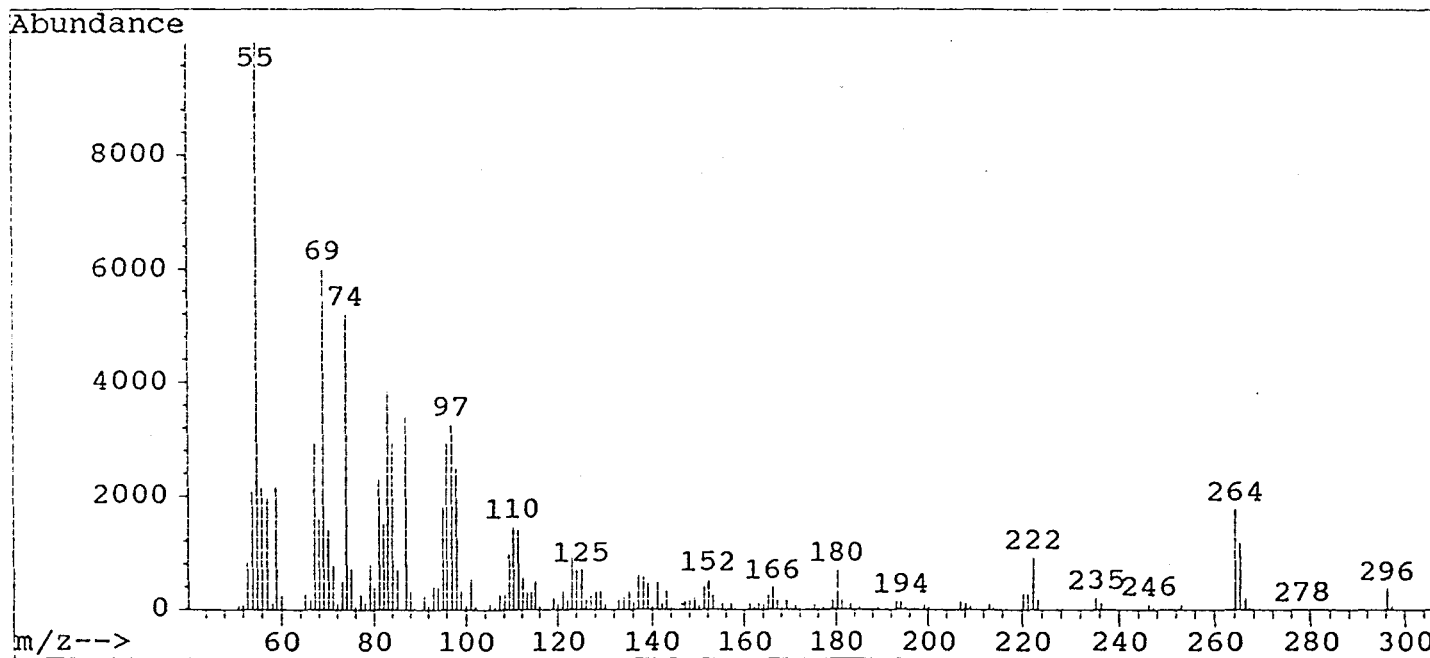


Figure 24 : Spectre de masse du C18:1 ω 7 sous forme d'ester méthylique.

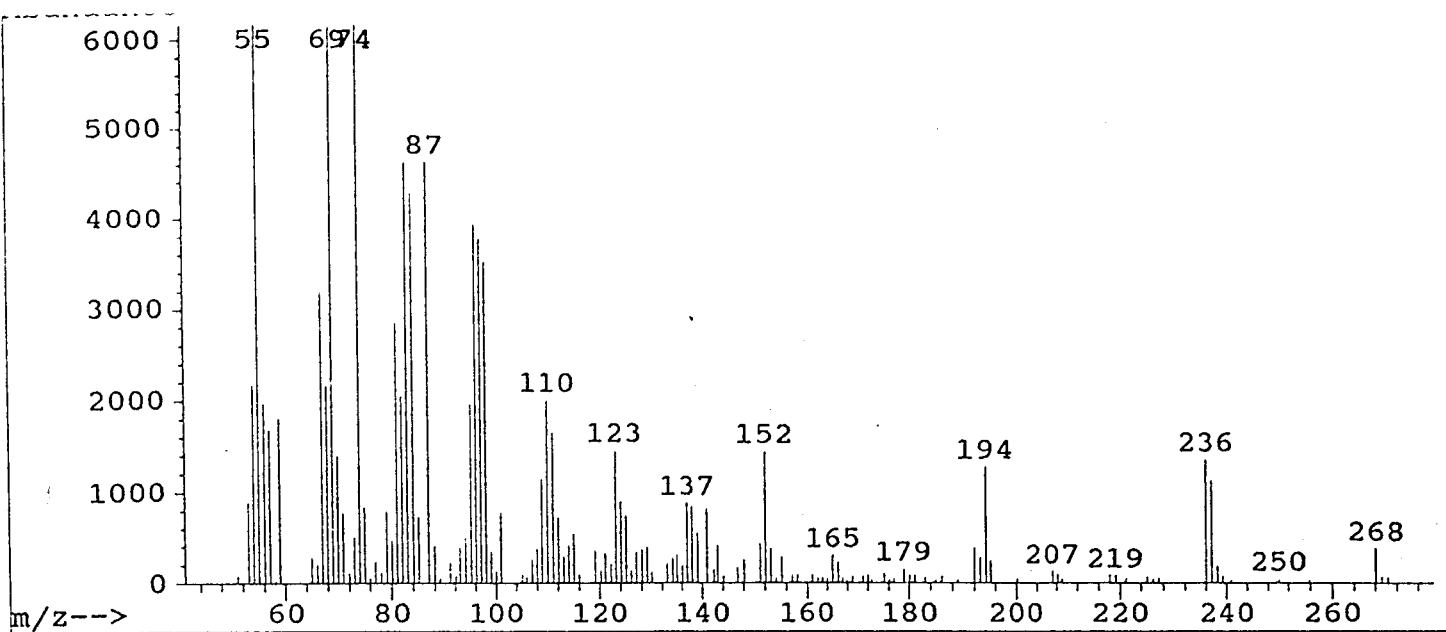


Figure 25 : Spectre de masse du C16:1 ω 7 sous forme AG-MEAG.

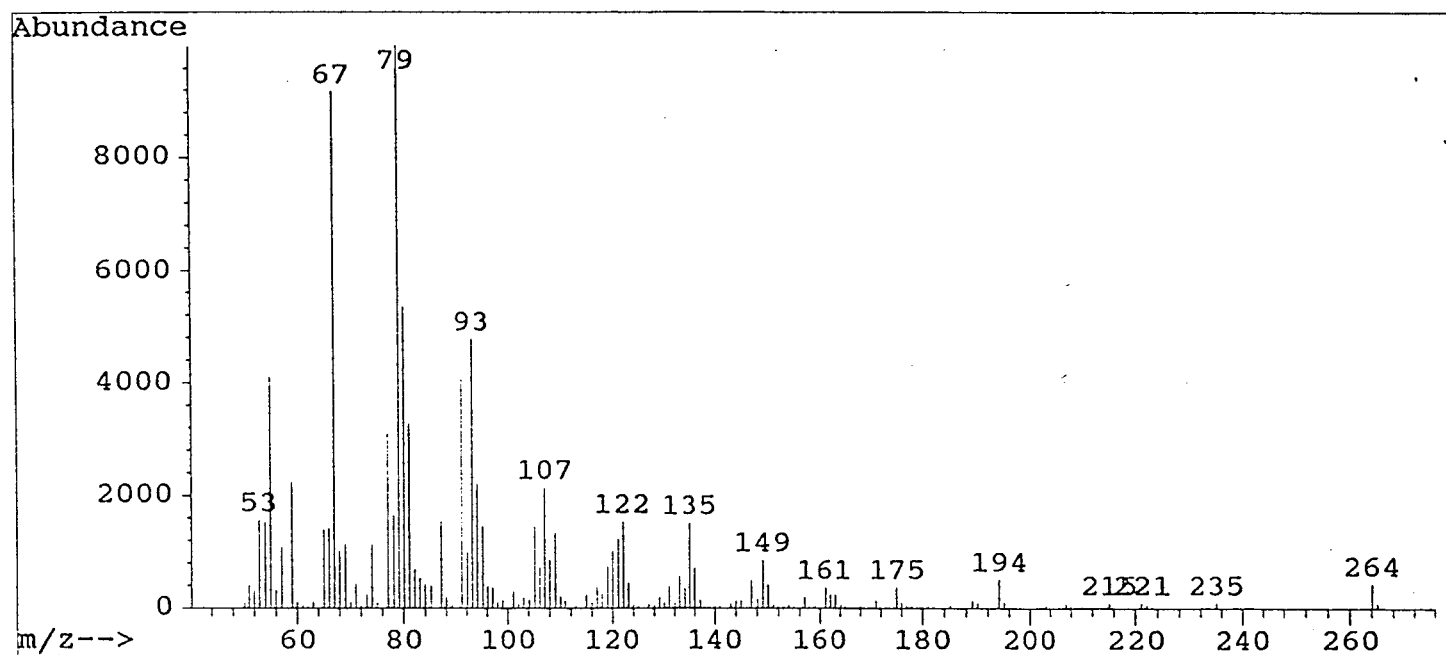


Figure 26 : Spectre de masse du C16:3 ω 4 sous forme AG-MEAG.

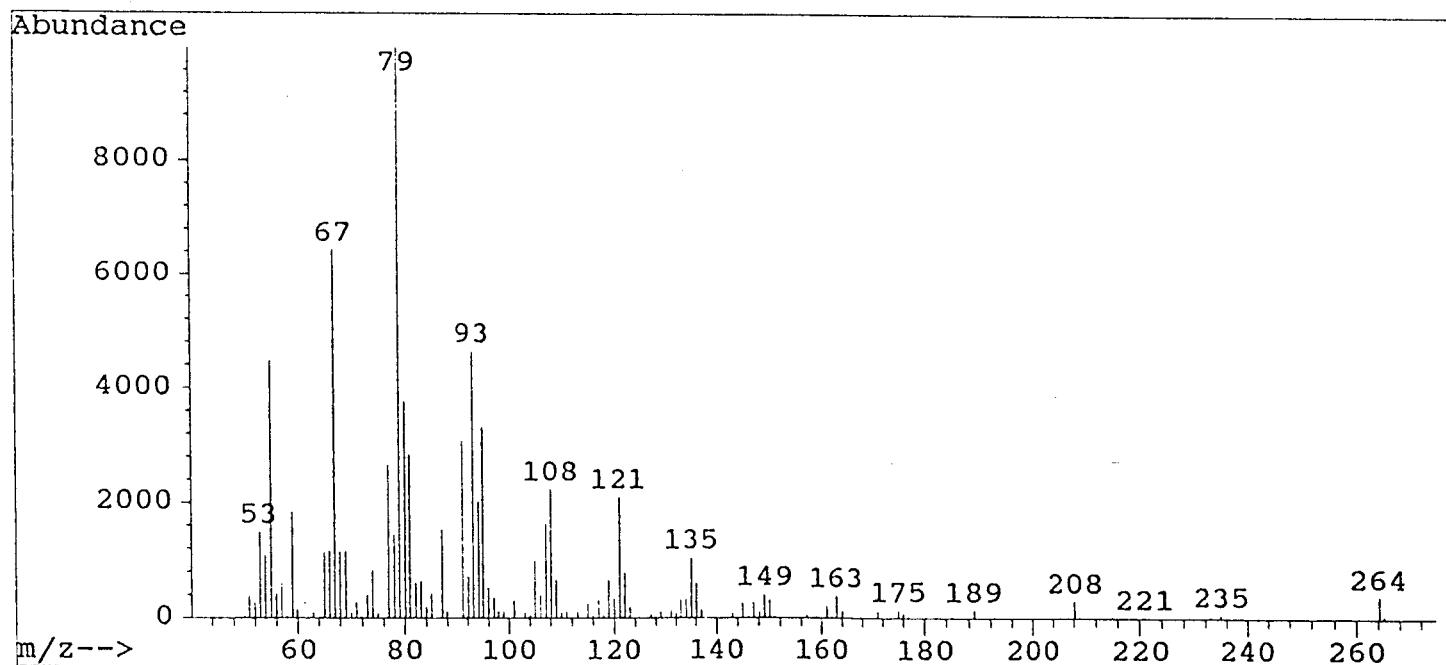


Figure 27 : Spectre de masse du C16:3 ω 3 sous forme AG-MEAG.

VI.1.b. Les MeAG ramifiés

Il est impossible de différencier en spectrométrie de masse deux acides gras saturés ramifiés en *iso* et *antéiso* possédant le même nombre d'atomes de carbone et donc la même masse moléculaire (figure 21 et 22). Leur spectre de masse étant quasiment identique, on y retrouve les mêmes ions et seules les intensités de quelques uns d'entre eux sont différents. Seul le temps de rétention permettra la distinction entre les deux composés.

VI.1.c. Les MeAG monoinsaturés

Il est possible en spectrométrie de masse par impact électronique de déterminer la position d'une double liaison sur la chaîne alkyle d'un MeAG monoinsaturé. Aussi deux monoinsaturés à même nombre d'atomes de carbone, mais dont les doubles liaisons ont des positions différentes dans la chaîne alkyle auront deux spectres de masse quasiment identiques. C'est notamment le cas pour le C18:1 ω 9 et le C18:1 ω 7 (figures 23 et 24). Et ceci bien qu'ils puissent être séparés l'un de l'autre par la colonne chromatographique. La formation de nouveaux dérivés doit être envisagée et ceci sera traité dans le paragraphe suivant.

VI.1.d. Les MeAG polyinsaturés

Le spectre de masse d'un MeAG polyinsaturé est très différent de celui de son homologue saturé ou monoinsaturé. Ceci est mis en évidence pour le C16:0, le C16:1 ω 7, le C16:3 ω 4 et le C16:3 ω 3 (figures 18, 25, 26 et 27). En effet, tandis que pour les composés saturés linéaires et ramifiés les pics les plus intenses ont des m/z égaux à 74 et 87, pour les monoinsaturés on peut observer un pic intense à 55. Enfin, pour les polyinsaturés les deux pics les plus intenses ont des m/z égaux à 67 et 79. Ces trois constatations permettent d'obtenir dans un premier temps une information sur le degré d'insaturation (saturés, monoinsaturés et polyinsaturés). L'ion moléculaire est généralement présent pour les MeAG saturés et monoinsaturés, mais son abondance décroît lorsque le nombre d'insaturations augmente. Son abondance en impacts électroniques devient quasiment nulle pour les composés polyinsaturés à quatre insaturations et plus. De plus, les spectres de masse de deux

MeAG à même nombre d'insaturations et même nombre d'atomes de carbone sont quasiment identiques même si la position des insaturations est différente, c'est par exemple le cas du C16:3 ω 3 et du C16:3 ω 4.

Comme les spectres de masse obtenus par impact électronique des acides gras méthylés insaturés ne permettent pas toujours leur identification, d'autres solutions doivent être envisagées pour identifier ces composés. Une solution est alors d'employer une méthode d'ionisation chimique qui permet d'augmenter l'abondance de l'ion moléculaire. Cependant si on ne dispose pas de l'appareillage requis, le problème peut être résolu en dérivant une seconde fois les acides gras pour obtenir des composés donnant un spectre de masse exploitable (Erny, 1998). C'est cette alternative qui a été retenue car elle peut être réalisée facilement sur n'importe quel échantillon suffisamment concentré. On peut ainsi comparer les spectres chromatographiques avant et après dérivation en utilisant le même appareillage.

Un autre moyen d'identifier les acides gras inconnus est de calculer les longueurs de chaînes équivalentes (LEC). Ces indices comparés à ceux de composés connus permettent leur identification.

Ces deux aspects, d'une part l'étude des longueurs de chaînes équivalentes, et d'autre part l'identification des acides gras polyinsaturés par la formation de nouveaux dérivés, seront détaillés ci-après. Ils ont été développés dans le cadre du diplôme d'études approfondies de Erny G. (1998)

VI.2 Détermination des longueurs équivalentes de chaînes

La méthode des longueurs équivalentes de chaînes (LEC) est dérivée du système des indices de rétention de Kováts (Tranchant *et al.*, 1995). Elle permet l'identification de pics inconnus dans une famille homogène où les molécules ne diffèrent entre elles que par leur chaîne carbonée. Elle est basée sur la comparaison de la position du pic correspondant au composé inconnu à celles de deux pics qui l'encadrent dans le chromatogramme et qui correspondent à deux acides gras saturés dont la chaîne alkyle a un nombre pair d'atomes de carbone.

Si le pic de soluté est situé entre celui correspondant à l'acide gras saturé à n atomes de carbone, et celui à $n+2$ atomes de carbone, la longueur équivalente de chaîne (LEC) est calculée par les formules 1 et 2 (Tranchant *et al.*, 1995).

En chromatographie isotherme et isobare, les LEC sont calculées à partir des logarithmes décimaux des différents temps de rétention suivant l'équation 1 :

$$(1) \quad LEC_x = n + \frac{2(\log t'_{R(x)} - \log t'_{R(C_n)})}{\log t'_{R(C_{n+2})} - \log t'_{R(C_n)}}$$

Avec $t'_{R(x)}$, $t'_{R(C_n)}$ et $t'_{R(C_{n+2})}$ qui sont les temps de rétention réduits respectivement du composé inconnu (x) et des AG saturés à n et $n+2$ atomes de carbone.

En chromatographie avec programmation de température linéaire, le calcul est réalisé directement à partir des temps de rétention selon l'équation 2 :

$$(2) \quad LEC_x = n + 2 \times \frac{t_{R(x)} - t_{R(C_n)}}{t_{R(C_{n+2})} - t_{R(C_n)}}$$

Avec $t_{R(x)}$, $t_{R(C_n)}$ et $t_{R(C_{n+2})}$ qui sont les temps de rétention respectifs du composé inconnu (x) et des AG saturés à n et $n+2$ atomes de carbone.

La détermination des LEC en condition isotherme est plus précise qu'en programmation de température. Cependant, étant donnée la gamme importante d'AG analysés (qui contiennent de 14 à 32 atomes de carbone), plusieurs injections à des températures différentes seraient nécessaires, ce qui compliquerait les calculs.

Aussi, nous avons choisi de travailler en programmation de température selon les conditions chromatographiques utilisées pour l'analyse des échantillons. En programmation de température, les LEC sont précises à la deuxième décimale près.

	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24
<i>i-</i>			15,46		17,48						
<i>a-</i>		14,62		16,64							
sat	14,00	14,91	16,00	16,95	18,00	18,98	20,00	21,00	22,00	23,01	24,00
1 ω 9					18,28		20,28		22,31		24,32
1 ω 7			16,35	17,34							
1 ω 5	14,45	15,46									
2 ω 6					18,83		20,85		22,86		
3 ω 6					19,19		21,20				
4 ω 6							21,43				
3 ω 3					19,55		21,56				
5 ω 3							22,17				
6 ω 3										24,50	

Tableau 9 : la longueur de chaîne équivalente de quelques MeAG pour une colonne de type BPX70 calculée à partir de mélanges standards (d'après Erny, 1998).

D'après la formule (2), les LEC sont des chiffres entiers pour les AG saturés linéaires à nombre pair d'atomes de carbone et des chiffres comportant une partie décimale pour les composés insaturés ou ramifiés. La partie décimale aura la même valeur, aux incertitudes expérimentales près, pour deux composés ayant un nombre d'atomes de carbone différent mais le même nombre d'insaturations (ou de groupements méthyle substitués) et dont les doubles liaisons sont placées de manière identique par rapport au CH₃ terminal. C'est par exemple le cas pour les C18:2 ω 6, C20:2 ω 6 et C22:2 ω 6 (tableau 9). Les LEC peuvent à priori permettre de déterminer le nombre de doubles liaisons et leurs positions pour des composés inconnus à partir des données acquises sur des standards connus. Cependant on ne peut identifier un AG que si l'on possède un composé homologue en standard ; ainsi avec les LEC données dans le tableau 9, on ne peut pas identifier les composés en 2 ω 7. Par ailleurs, le calcul des LEC n'est pas une méthode d'identification absolue et doit être couplé à d'autres investigations analytiques.

VI.3 Analyse des spectres de masse des acides gras après dérivation supplémentaire.

Nous avons utilisé au laboratoire des méthodes de dérivation dont le but est de favoriser une fragmentation carbone par carbone en ajoutant un groupement stabilisant et de déterminer la structure (nombre et position des doubles liaisons) des acides gras MeAG monoinsaturés et polyinsaturés.

Deux types de dérivés permettent l'obtention de spectres de masse exploitables. Les premiers sont obtenus après addition d'un composé sur les insaturations pour obtenir un motif de fragmentation spécifique, c'est le cas de l'addition de diméthylsulfure pour les AG monoinsaturés. Les seconds types de dérivés sont formés par remplacement du CH₃ de la fonction ester par un groupement contenant un atome d'azote. Ceci a pour avantage de stabiliser l'ion moléculaire dont la charge est portée par le groupement contenant l'azote, et de stabiliser les fragments contenant une ou plusieurs insaturations. Pour notre part, nous avons étudié la formation de dérivés du second type issus d'une part d'une réaction avec la pyrrolidine (Andersson et Holman, 1974), et d'autre part avec le 2-amino-2-méthylpropanol (Fay et Richli, 1991).

VI.3.a. Dérivation par la pyrrolidine (figure 28) :

L'extrait organique contenant les MeAG est évaporé à sec. On ajoute 1 ml de pyrrolidine et 0,1 ml d'acide acétique glacial. Le mélange est chauffé à 100°C pendant une demi-heure, puis refroidi à température ambiante. Les dérivés formés (AG-PYRRO) sont extraits au chloroforme. La phase chloroformique est lavée deux fois à l'eau distillée puis est ensuite évaporée, pour être remplacée par de l'hexane. L'échantillon peut ensuite être injecté en CG/SM.

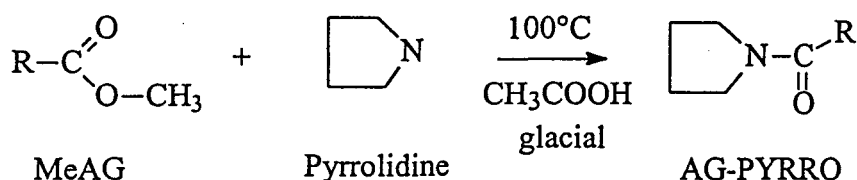


Figure 28 : réaction de dérivation à la pyrrolidine.

IV.3.b. Dérivation par le 2-amino-2-méthyl-propanol (figure 29) :

L'extrait organique contenant les MeAG est évaporé à sec. On y ajoute 1 ml de 2-amino-2-méthyl-propanol, et le mélange est chauffé à 180°C pendant une nuit. On obtient des dérivés de type diméthylloxazoline (AG-DMOX) qui sont extraits par 2ml de chloroforme. Après lavage à l'eau distillée la phase chloroformique est évaporée. De l'hexane est ajouté et l'échantillon peut être injecté en CG-SM.

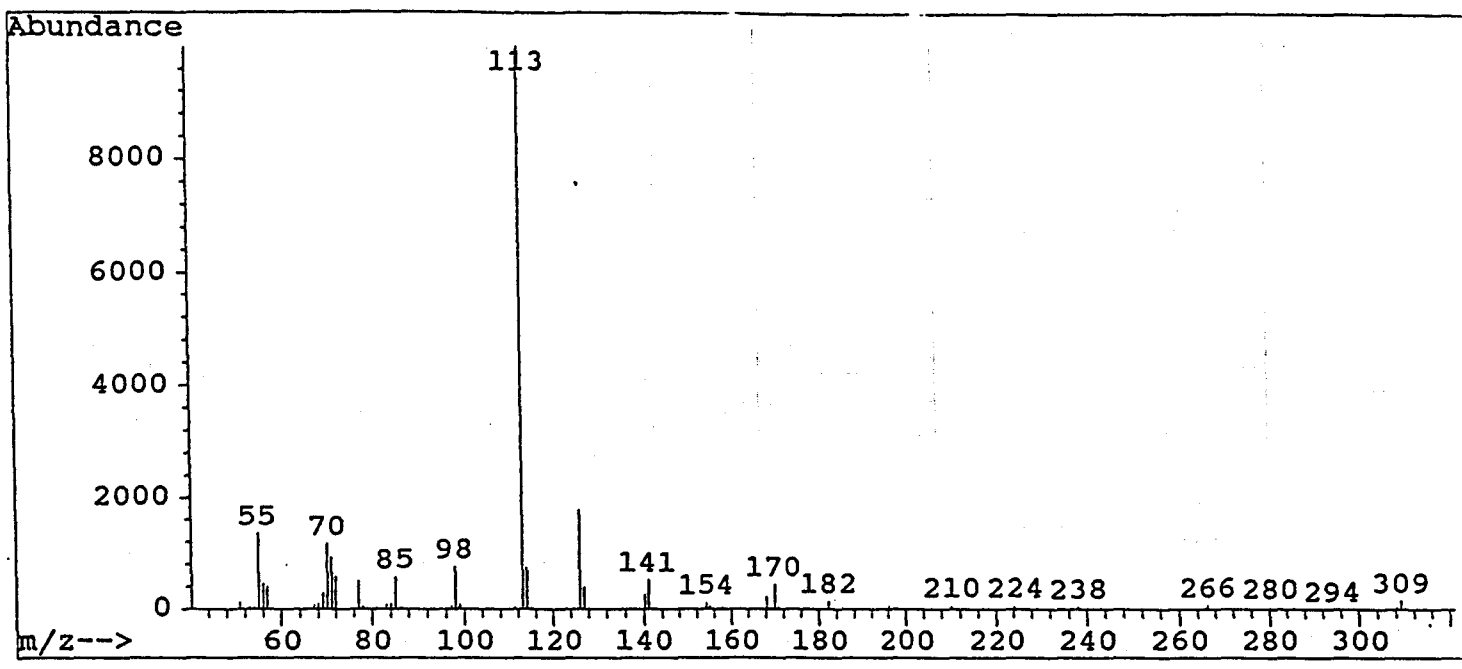


Figure 30 : Spectre de masse du C16:0 sous forme de dérivé AG-PYRRO.

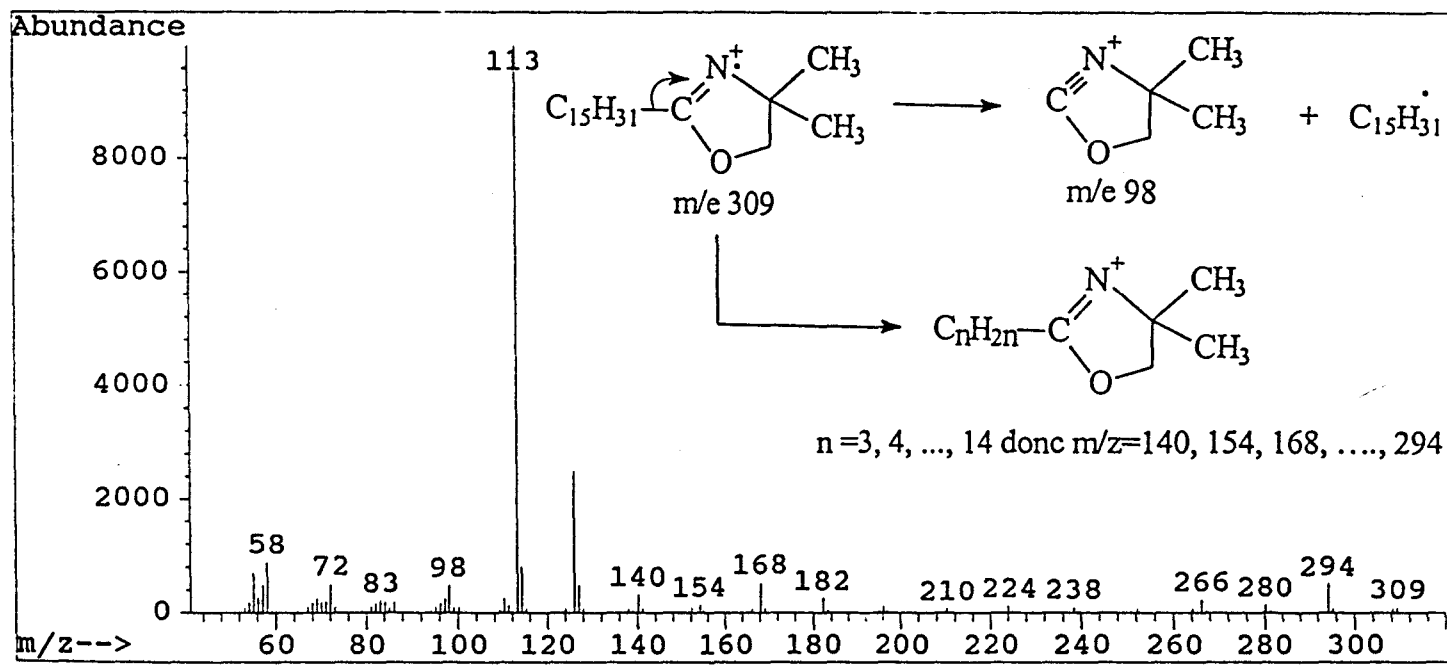


Figure 31 : Spectre de masse du C16:0 sous forme de dérivé AG-DMOX.

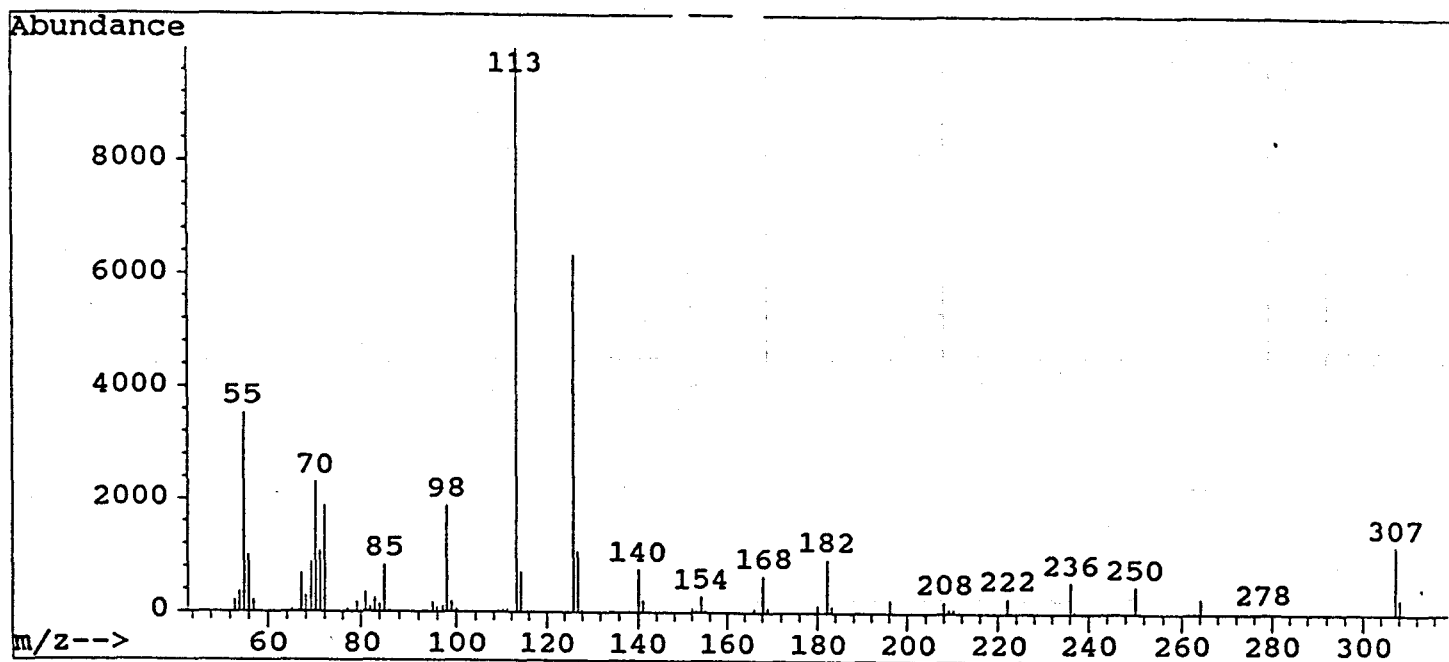


Figure 32 : Spectre de masse du C16:1 ω 7 sous forme AG-PYRRO.

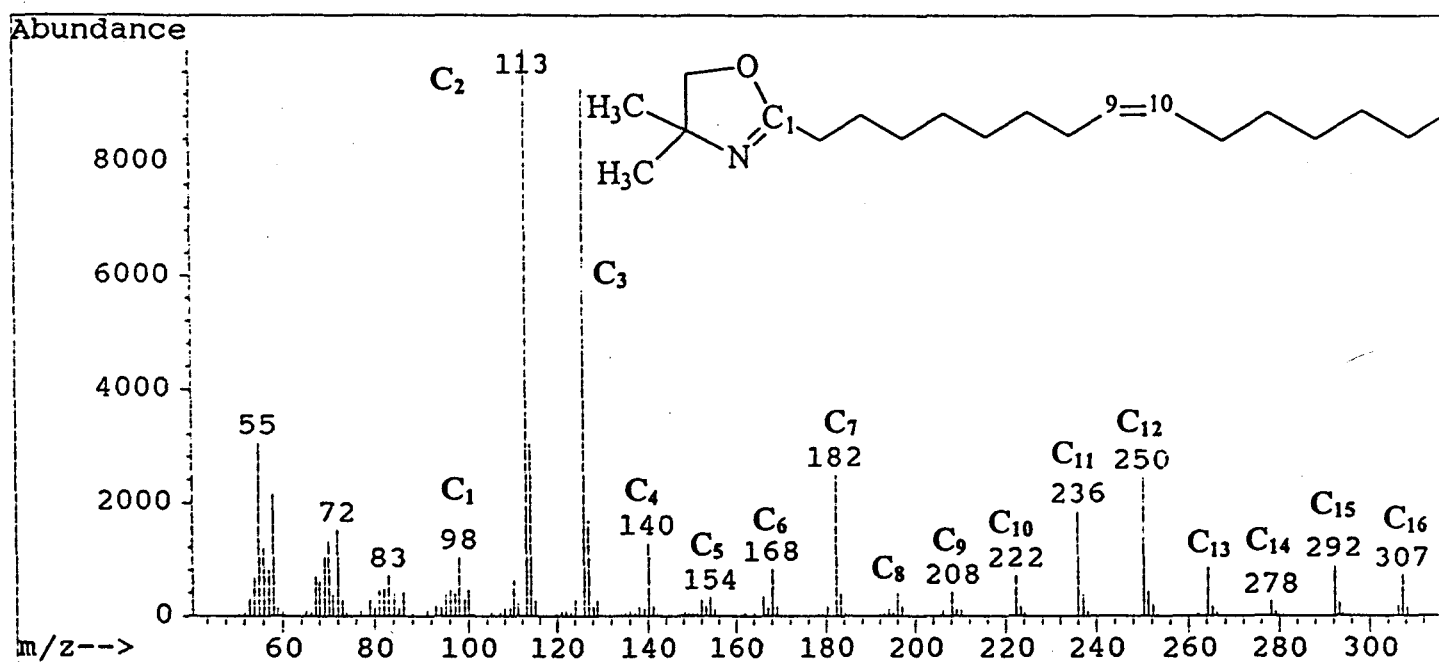
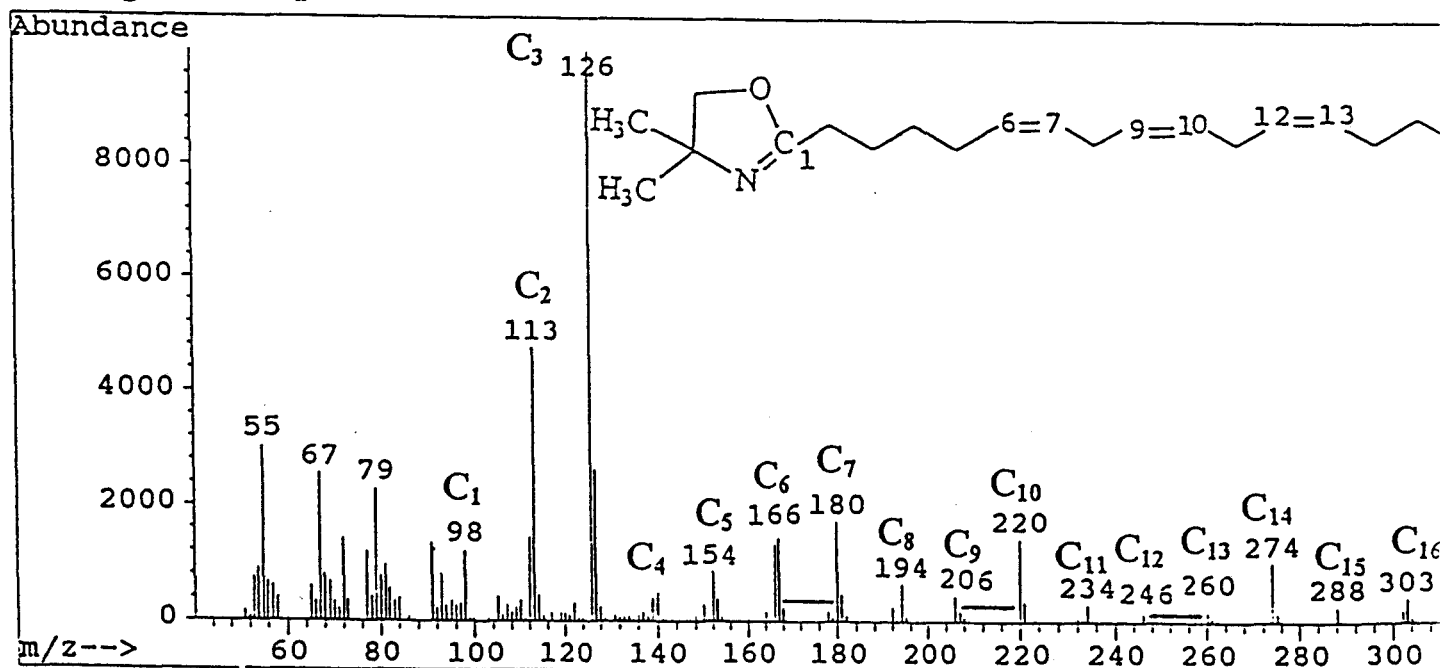
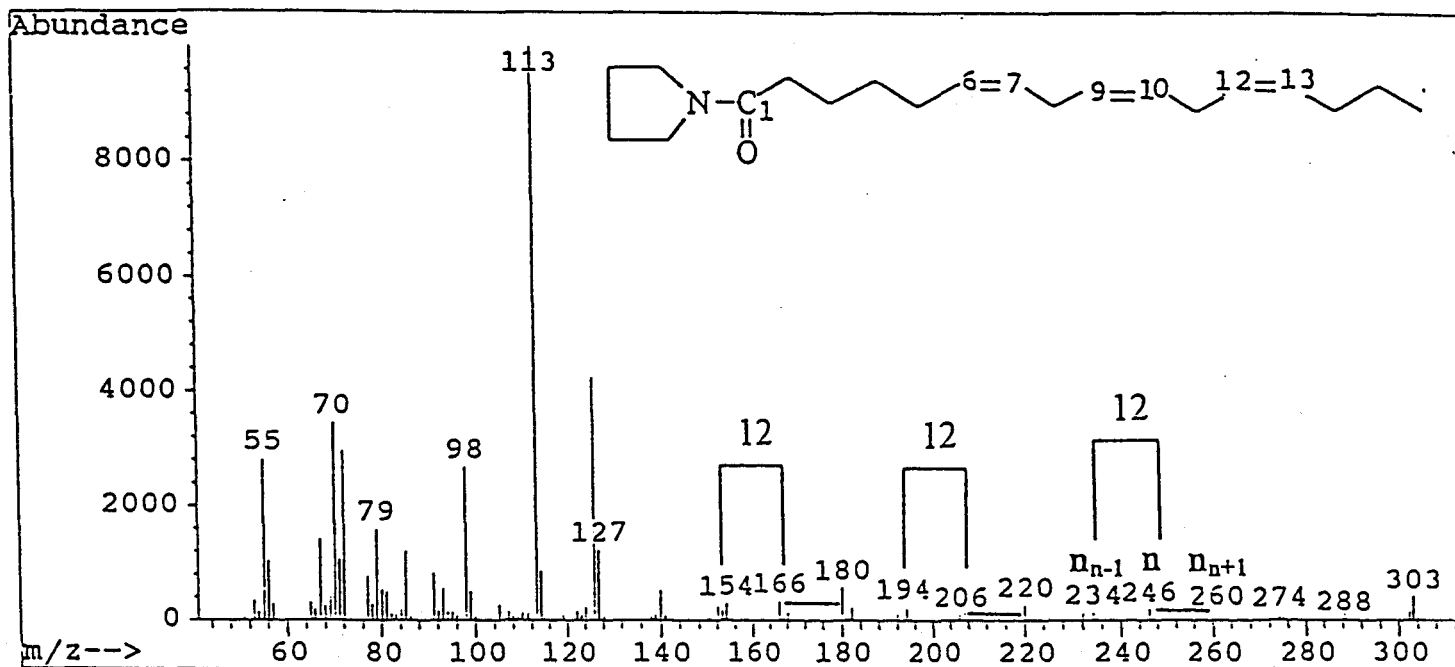
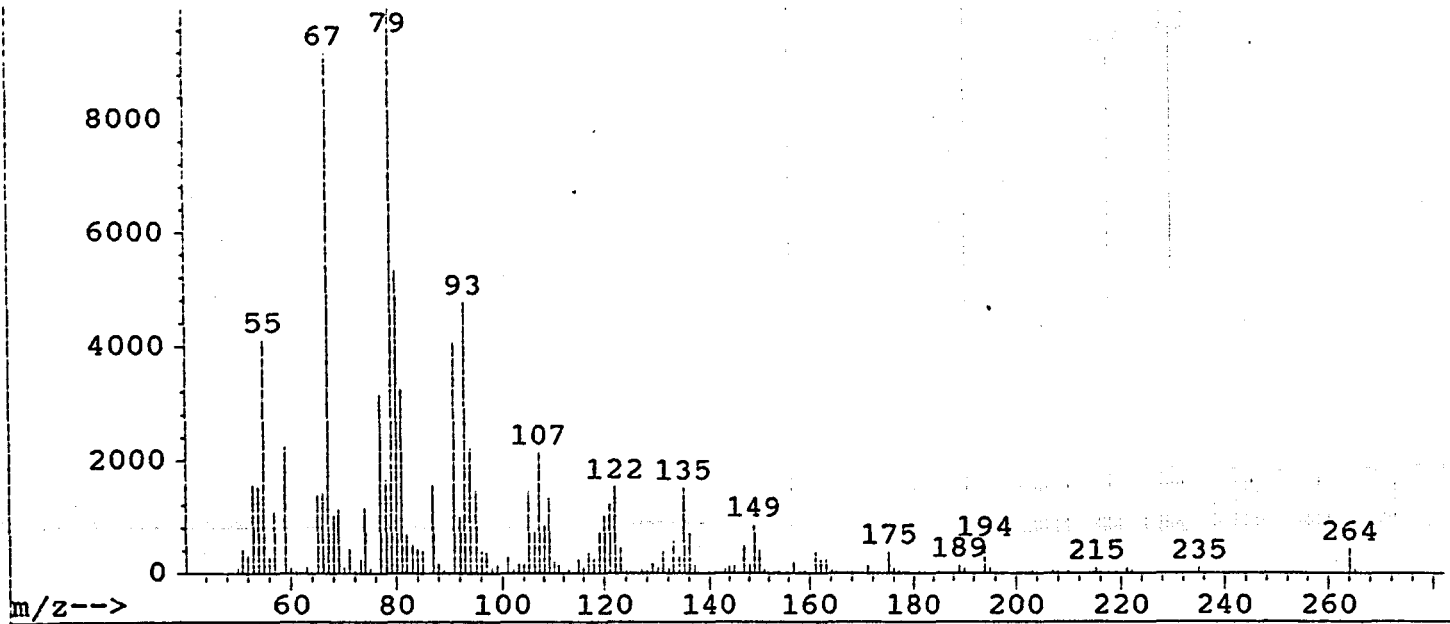


Figure 33 : Spectre de masse du C16:1 ω 7 sous forme AD-DMOX.



Etude de spectres d'acides gras monoinsaturés et polyinsaturés :

Sur les figures 25, 32 et 33 sont représentés respectivement les spectres de masse du C16:1 ω 7 sous forme MeAG, dérivé à la pyrrolidine et au 2-amino-2-méthyl-propanol. Pour les trois méthodes, on obtient l'ion moléculaire de m/z égal à 268 pour l'ester méthylique et à 307 pour les deux autres dérivés. Pour les dérivés AG-DMOX et AG-PYRRO la molécule de C16:1 ω 7 va subir une fragmentation carbone par carbone. Celle-ci va perdre son CH₃ terminal donc un $m/z = 15$ d'où la présence du fragment de $m/z = 292$ sur le spectre AG-DMOX (figure 33). Ensuite tous les pics de $292 > m/z > 126$ sont séparés par un intervalle de $m/z = 14$ (figures 32 et 33) qui correspond à la perte d'un groupement CH₂, sauf dans le cas de la présence d'une insaturation où un intervalle de $m/z = 12$ est observé entre deux fragments.

Ainsi, les insaturations peuvent être localisées en utilisant la règle formulée par Andersson et Holman (1974) pour les dérivés de la pyrrolidine :

Si un intervalle de 12 a.m.u est observé à la place d'un intervalle de 14 a.m.u entre deux fragments contenant n et $n-1$ atomes de carbone, alors il y a une double liaison sur l'AG parent entre le carbone n et $n+1$.

La règle Andersson et Holman (1974) compte les carbones (donc positionne les n) par rapport à la fonction chimique principale, c'est à dire par rapport à la fonction acide.

Sur les spectres de masse C16:1 ω 7 (figures 32 et 33), l'écart de $m/z = 12$ est trouvé entre les fragments de $m/z = 196$ et $m/z = 208$ (m/z) respectivement les carbone 8 et 9. La double liaison se trouve entre les fragments de $m/z = 208$ et $m/z = 222$ ce qui correspond aux carbones 9 et 10 de la chaîne alkyle. En nomenclature C $_n$: $p\omega_x$, il s'agit donc du C16:1 ω 7. De plus pour tous les acides gras monoinsaturés, l'intensité des fragments des atomes de carbone $n-2$, $n+2$ et $n+3$ ont des intensités plus élevées (m/z 182, 236 et 250) que les autres fragments. Pour les spectres de masse dérivés à la pyrrolidine, les fragments sont moins abondants, ainsi on n'observe pas de pic de $m/z = 292$ sur le spectre de masse du C16:1 ω 7 dérivé à la pyrrolidine (figure 32), ceci peut être un inconvénient pour la localisation des doubles liaisons.

Sur les figures 34, 35 et 36 sont représentés respectivement les spectres de masse du C16:3 ω 4 sous forme MeAG, dérivé à la pyrrolidine et au 2-amino-2-méthyl-propanol.

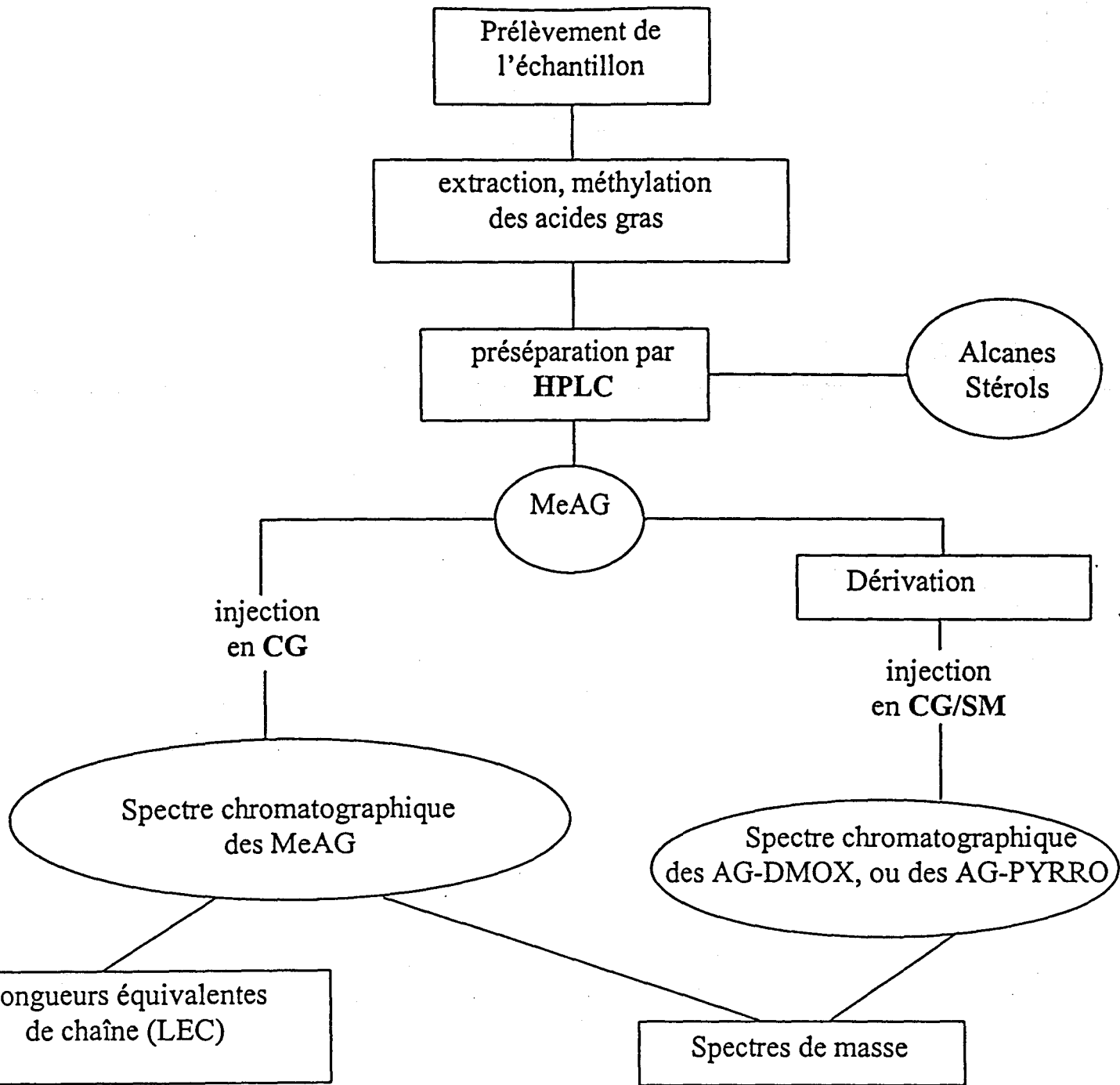


Figure 37 : Protocole d'identification des acides gras et des stérols.

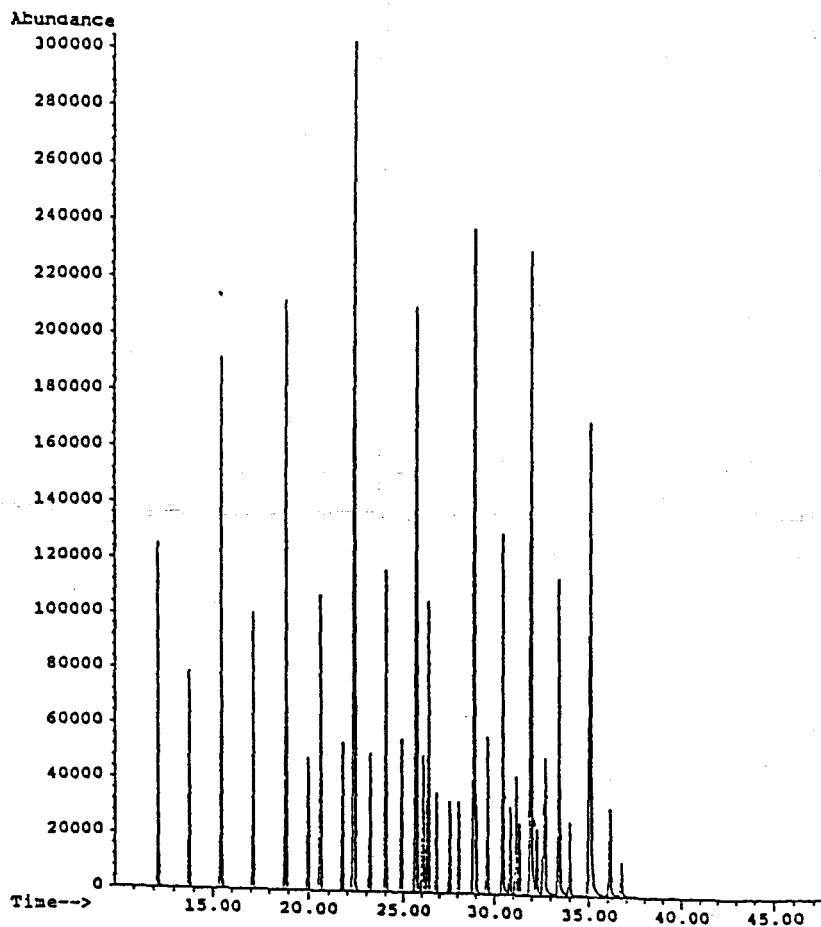


Figure 38 : Spectre chromatographique du standard Supelco avec des acides gras sous forme AG-PYRRO.

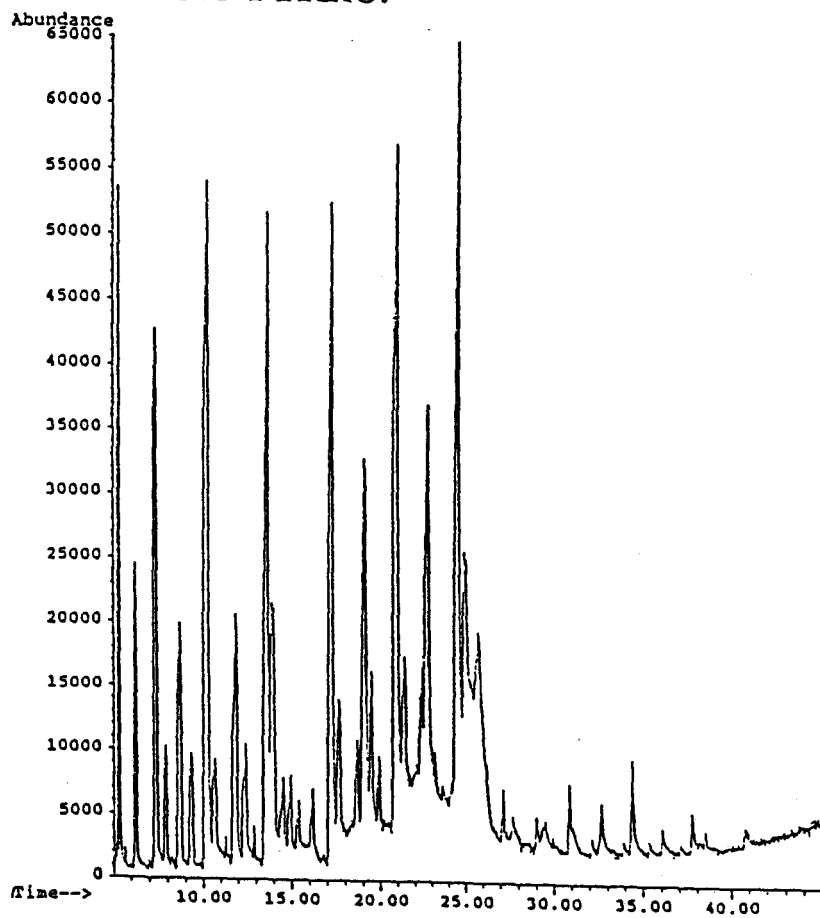


Figure 39 : Spectre chromatographique du standard Supelco avec des acides gras sous forme AG-DMOX.

L'analyse des spectres AG-PYRRO et AG-DMOX permet de constater qu'un intervalle de 12 m/z est indiqué que le composé possède 3 insaturations, dont la plus proche du CH₃ terminal se situe entre les fragments de m/z = 246 - 260. Ce qui correspond aux carbones n°12 et n°13 par rapport à la fonction acide et à la position ω4 par rapport au CH₃ terminal.

On peut donc en conclure qu'il s'agit bien du C16:3ω4. On remarque aussi que pour le spectre de l'AG-PYRRO les fragments de m/z > 127 sont moins abondants que pour celui de l'AG-DMOX.

VII. Conclusion

L'analyse des AG et ST (figure 37) fait intervenir un protocole analytique rigoureux qui utilise différentes techniques chromatographiques, HPLC, CG et CG/MS.

Pour l'identification des AG, trois méthodes ont été utilisées, à savoir l'étude des spectres de masse des MeAG, celle des spectres des AG-PYRRO (dérivatisation par la pyrrolidine), et des AG-DMOX (dérivatisation par le 2-amino-2-méthyl-propanol).

Certains acides gras méthylés sont directement identifiables par spectrométrie de masse à impact électronique éventuellement avec l'aide des données chromatographiques. C'est le cas des acides gras saturés et des acides gras ramifiés.

Pour les esters méthyliques d'AG monoinsaturés et polyinsaturés, on peut déduire de leurs spectres de masse le nombre d'insaturations quand l'ion moléculaire est présent, mais pas leurs places précises dans la chaîne alkyle. Les spectres des dérivés AG-PYRRO et AG-DMOX permettent de localiser les doubles liaisons. Les spectres de masse des dérivés AG-DMOX sont plus simples à analyser que ceux des AG-PYRRO. En effet le groupement DMOX a un effet stabilisant plus important que le groupement pyrrolidique. Aussi, les intensités des pics de fragmentation sont plus importantes. L'ordre d'élution des AG-DMOX et des AG-PYRRO, est le même que celui des MeAG parents. Cependant les AG-PYRRO (figure 38) à quantité d'acides gras équivalente sortent sous forme de pics plus grands et

mieux résolus que les spectres chromatographiques des AG-DMOX (figure 39). Il faut donc que les AG-DMOX soient en quantité suffisante pour permettre une identification probante.

Ces méthodes ne permettent pas cependant d'élucider toutes les structures, elles sont en particulier inadaptées pour déterminer les isomères conformationnels (isomères *cis/trans*).

La détermination des LEC à partir de chromatogrammes des MeAG permet de confirmer les identifications précédentes. Elle ne peut être considérée comme une méthode d'identification à part entière, notamment à cause des incertitudes portant sur les calculs et inhérentes à nos conditions analytiques.

Origine et transport de la matière organique particulaire dans l'estuaire de la Seine

I. Introduction

Avant d'étudier le réseau trophique dans la partie oligohaline de l'estuaire de Seine, il est nécessaire de mieux connaître la composition de la matière organique particulaire (MOP) qui est à la base de la chaîne alimentaire.

La MOP dans les estuaires a des origines très diverses (Saliot *et al.*, 1984 ; Saliot, 1994). Elle peut avoir une origine continentale (végétaux supérieurs, rejets urbains), dulçaquicole (planctonique) ou marine notamment par le développement du phytoplancton dans et à la sortie de l'estuaire.

Les deux premières parties de ce chapitre sont consacrées à la présentation du programme Seine Aval, et à faire un bref état des connaissances précédemment acquises sur la MOP par notre laboratoire en estuaire de Seine.

La MOP a été analysée lors de deux cycles de marée en avril et mai 1997. Outre les paramètres classiques (salinité, température, matières en suspension (MES), oxygène dissous), les composants élémentaires (COP et NOP), les pigments (chlorophylle-a et phéopigments), les marqueurs lipidiques (AG et ST) ont été étudiés.

II. Le programme Seine -Aval

Cette thèse a été préparée dans le cadre du programme scientifique Seine-Aval dont le but est d'étudier l'ensemble des problèmes liés à la qualité des eaux dans l'estuaire de la Seine. Ceci dans deux domaines clés : la contamination chimique et les perturbations induites par la modification des cycles naturels (matière organique détritique et vivante, micro-organismes).

Ce programme scientifique doit mener, à terme, à une amélioration de la qualité des eaux, notamment par une diminution des rejets de contaminants.

Plus de vingt laboratoires (Universités, CNRS, IFREMER, CEA, CEMAGREF, Cellule Antipollution de Rouen et Grandes Ecoles), d'origines diverses, de disciplines complémentaires, se sont réunis depuis avril 1995 pour mener ce programme de recherche.

Le programme Seine-Aval bénéficie du soutien financier de l'état, des régions du Bassin Parisien, de l'Agence de l'eau Seine Normandie et des industries de Haute Normandie, il est piloté par la région Haute Normandie.

Ce programme s'articule autour de 4 thèmes principaux dans chacun desquels intervient la "modélisation mathématique" (Seine aval, 1998). Celle-ci permet par le biais des modèles d'avoir une perception de l'ensemble des mécanismes de l'estuaire au niveau hydrodynamique, chimique et biologique et aussi de pouvoir optimiser les efforts d'assainissement. Ces 4 thèmes sont :

- "l'hydrodynamisme et le transport sédimentaire" qui permet de mieux connaître la situation actuelle de l'estuaire par exemple en ce qui concerne la composition de la couverture sédimentaire, les transferts et les flux de matériel particulaire, la dynamique des sédiments fins entre le chenal principal et les vasières, les processus de flocculation et de sédimentation.

- la partie "microbiologie et oxygénation" qui porte notamment sur la caractérisation des communautés microbiennes et l'étude de leur activité, du cycle de l'azote et en particulier de l'incidence de la nitrification sur la teneur en oxygène dissous, de la production de N_2O , etc...

- la "chimie des contaminants" qui a trait au cycle de certains métaux lourds comme le cadmium, le fer et le manganèse ainsi qu'à l'étude des flux, du transfert de certains polluants organiques comme les herbicides (triazines) et à la contamination par les PCB.

- enfin le thème "édifices biologiques" qui porte sur une connaissance approfondie de la biocénose estuarienne et sur le devenir des contaminants dans l'estuaire, en particulier leur effet sur les organismes vivants. Ce thème, dans le cadre duquel cette thèse a été menée, est dirigé par J.C. Dauvin (UPRES A CNRS 8013 ELICO) et A. Abarnou (IFREMER BREST). Il est articulé autour de trois axes (Seine-Aval, 1998) :

- les ressources vivantes ; il s'agit de préciser nos connaissances sur la distribution qualitative (diversité des communautés estuariennes) et quantitative (structuration en abondance et en biomasse) des espèces et des peuplements de l'estuaire de la seine de Poses à la Baie de Seine.

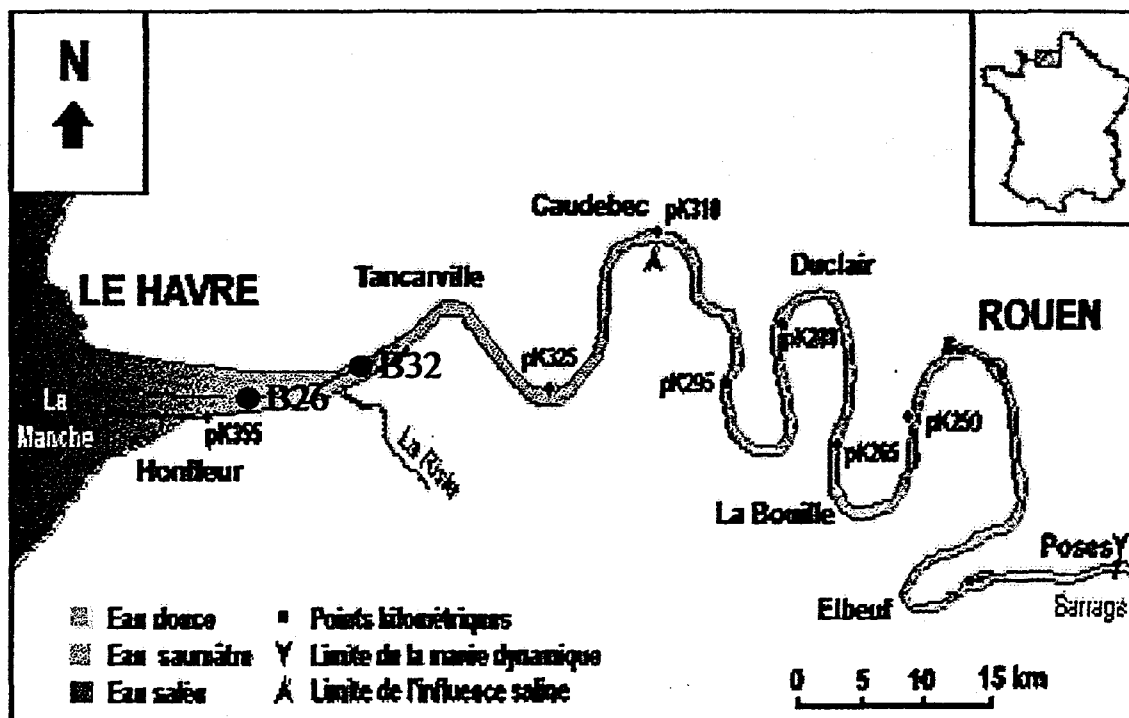


Figure 40 : L'estuaire de Seine

Cet inventaire des ressources et de la diversité constitue un diagnostic de l'état de santé de l'estuaire. Les études à caractère fonctionnel des réseaux trophiques ont pris en 1997 une place importante. Cet aspect est en effet de nature à mieux renseigner sur le cheminement des contaminants dans la chaîne trophique.

- les contaminants dans les organismes et la bioaccumulation ; le problème de la contamination chimique de l'estuaire et de la baie de Seine reste une des grandes questions du programme Seine-Aval. Il importe pour quelques contaminants caractéristiques de se donner les moyens d'établir le bilan au niveau du compartiment biologique estuarien. Pour ces bilans et pour l'élaboration du modèle de bioaccumulation des mesures sont, cependant, encore nécessaires de façon à prendre en compte les variations saisonnières de la contamination et d'éventuels processus saisonniers de bioaccumulation en relation avec l'état physiologique des organismes estuariens.

- Les effets biologiques de la contamination ; compte-tenu des concentrations élevées en substances les plus diverses, l'étude des effets représente une contribution essentielle du thème. L'approche entreprise inclut l'utilisation de divers biomarqueurs (activités enzymatiques, effets mutagènes) de l'écotoxicologie et de la biologie moléculaire tant de façon expérimentale que par des études sur le terrain.

III. L'estuaire de Seine

III.1. Description du site

L'estuaire de la Seine (figure 40) a une superficie de 78 650 km². Il est le lieu de convergence des eaux recueillies sur le bassin versant ; aux nombreux apports anthropiques propres au bassin de la Seine s'ajoutent des effluents urbains de l'agglomération parisienne et rouennaise. La Seine traverse 8 régions soit 25 départements ce qui représente 30 % de la population française et 40 % de l'activité économique nationale. Dans la partie estuarienne, on trouve aussi une forte activité industrielle notamment autour du Havre et de Rouen qui sont essentiellement des industries pétrolières, de raffinage et d'engrais.

L'estuaire est constitué de trois parties (Avoine, 1981) :

- une partie qui s'étend de Caudebec au barrage de Poses. Celle-ci est uniquement soumise à la marée dynamique.

- l'estuaire interne situé entre le Havre et Caudebec, est soumis à la marée dynamique et la marée saline. La zone entre Honfleur et Tancarville est caractérisée, par une zone de turbidité maximale (présence d'un bouchon vaseux) et d'un chenal de navigation qui est entouré par une fosse nord et une fosse sud.

- l'estuaire externe en baie de Seine qui s'étend sur environ 40 kilomètres en aval du Havre.

La limite amont de l'estuaire est fixée par la limite de pénétration de la marée dynamique qui arrive jusqu'au barrage de Poses (à environ 160 kilomètres en amont de Honfleur). La limite de pénétration du front de salinité (pour une salinité 0,5 Unité Pratique de Salinité.(P.S.U.)) se situe légèrement en amont du Pont de Tancarville.

Pour faciliter les échanges économiques au niveau de Rouen, l'estuaire de la Seine a subi dès le milieu du XIX^{ème} siècle des travaux d'endiguement qui ont permis de réduire le temps d'accès des bateaux jusqu'à Rouen et de faciliter le passage de plus grands navires. Ces divers aménagements ont été réalisés au détriment des zones humides qui ont vu leur surface diminuer de 140 km² (au XVI^{ème} siècle) à 25 km² actuellement. Les travaux les plus récents effectués entre 1990 et 1995 ont eu pour but la réalisation du Pont de Normandie. Actuellement, l'estuaire de la Seine subit régulièrement des dragages d'entretien. Un projet de grand port (port 2000), qui est à l'étude prévoit, notamment l'approfondissement du chenal de navigation et l'agrandissement du port du Havre. L'influence humaine par ses aménagements a eu pour conséquence de faire disparaître la forme initiale évasée de l'estuaire.

Les aménagements de l'estuaire de la Seine ont eu pour conséquence la modification de la position moyenne du bouchon vaseux. Entre 1955 et 1975 ce dernier s'est déplacé d'environ 40 kilomètres vers l'aval. Sa position moyenne semble stabilisée depuis la fin de la construction des endiguements au début des années 80.

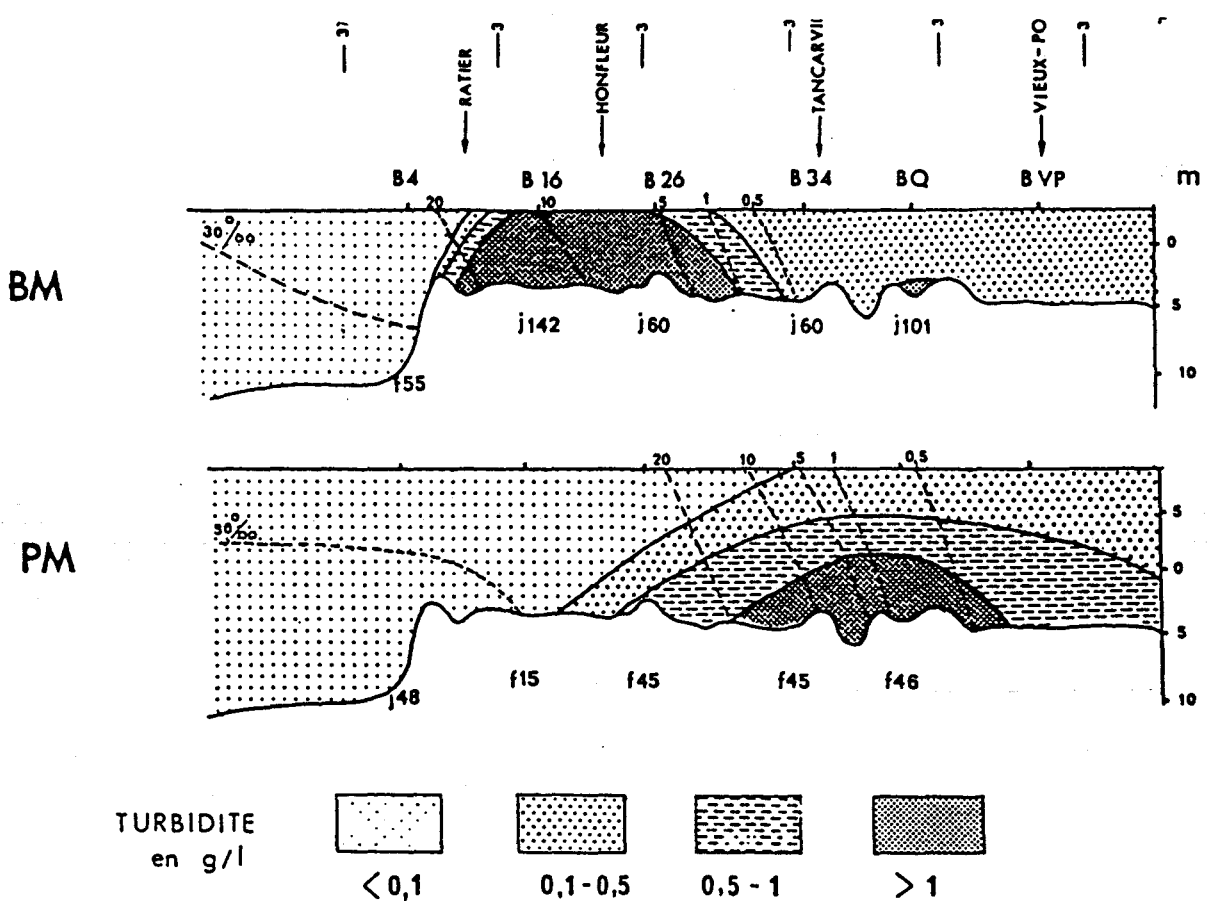


Figure 41 : Evolution longitudinale du bouchon vaseux en période de vive-eau et d'étéage ($190 \text{ m}^3/\text{s}$), à pleine mer et basse mer (d'après Avoine, 1981).

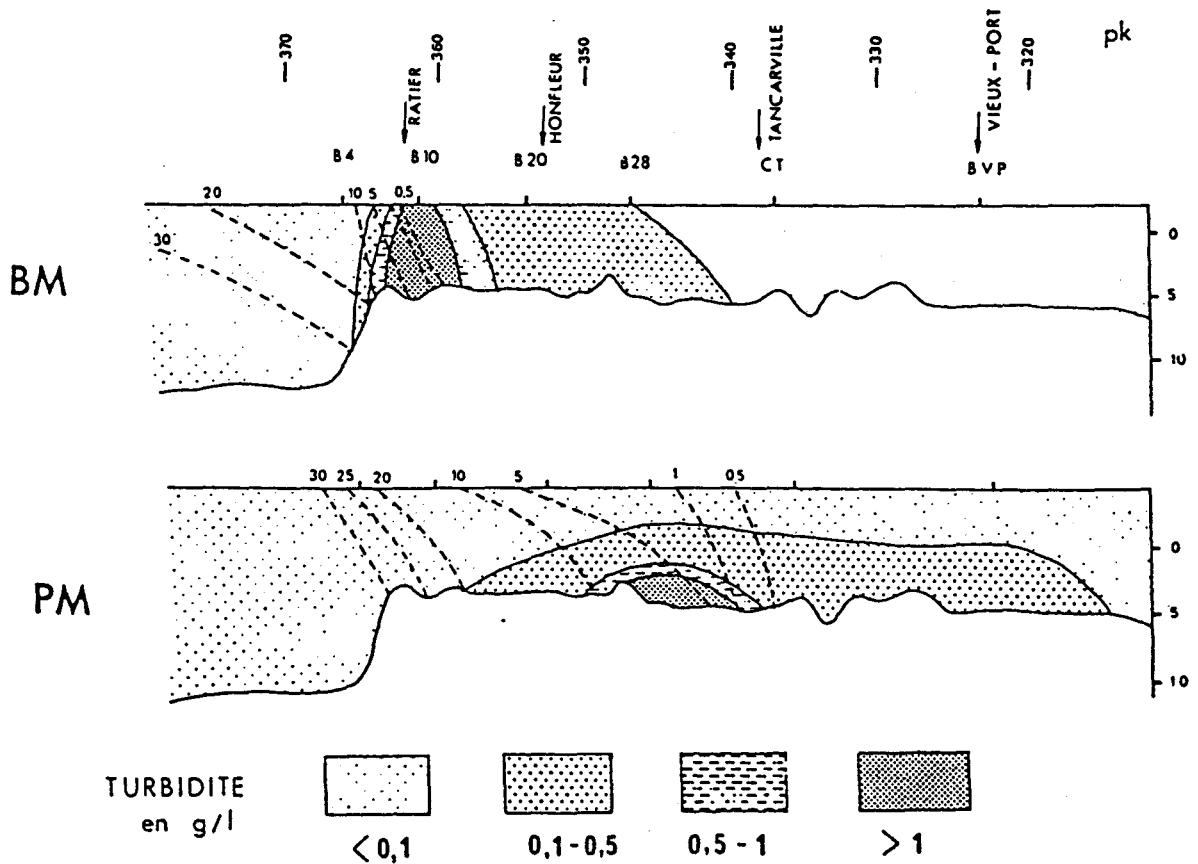


Figure 42 : Evolution longitudinale du bouchon vaseux en période de vive-eau et de crue ($1100 \text{ m}^3/\text{s}$), à pleine mer et basse mer (d'après Avoine, 1981).

III.2. Processus hydrodynamiques et sédimentaires : le bouchon vaseux

En condition de vive-eau et pour des débits de Seine équivalents, les fluctuations spatiales du bouchon vaseux sont comparables à celles des années 1978-1980.

Son déplacement est fortement lié au débit du fleuve. En période de vive-eau et d'étiage (figure 41), le cœur turbide du bouchon vaseux est localisé au niveau de Honfleur (pk 355) lors de la basse mer du Havre, il remonte pour se positionner en amont du pont de Tancarville (pk 335) à pleine mer. Par contre en période de vive-eau et de crue (figure 42), le maximum de turbidité se situe en aval de Honfleur à basse mer et en aval du pont de Tancarville à pleine mer.

La zone de turbidité maximale du bouchon vaseux présente en crue des teneurs en matières en suspension peu supérieures à 1 g/L et en étiage des teneurs de plusieurs g/L (Dupont *et al.*, 1996).

Ces résultats confirment ceux de Avoine (1981) :

- en période de crue, l'exportation des matières en suspension en baie de Seine est plus élevée et le bouchon vaseux est peu concentré.
- en période d'étiage, le taux d'exportation est plus faible et les teneurs de la zone turbide maximale sont plus élevées.

III.3. Transport de la MOP : Etat actuel des connaissances

Des études sur l'origine et le transport de la matière organique dans la zone de turbidité maximale dans l'estuaire de la Seine ont déjà été menées (Bodineau *et al.*, 1998a ; Bodineau *et al.*, 1998b ; Thoumelin *et al.*, 1997). Les prélèvements ont été effectués en point fixe en période de vive-eaux sous des conditions de crue et d'étiage. Ils ont mis en évidence que lors de la crue, le bouchon vaseux est expulsé dans la baie de Seine, ce qui ne se produit pas en période d'étiage.

De plus la décantation de la matière organique au cours des étales est plus importante aux étales de pleine mer qu'à celles de basse mer. Lors des diverses campagnes, la proportion du COP dans les MES est apparue constante et de l'ordre de 2 à 3 % (Chiffolleau *et al.*, 1994 ; Thoumelin *et al.*, 1997). L'étude de la MOP en période de crue hivernale a montré que celle-ci

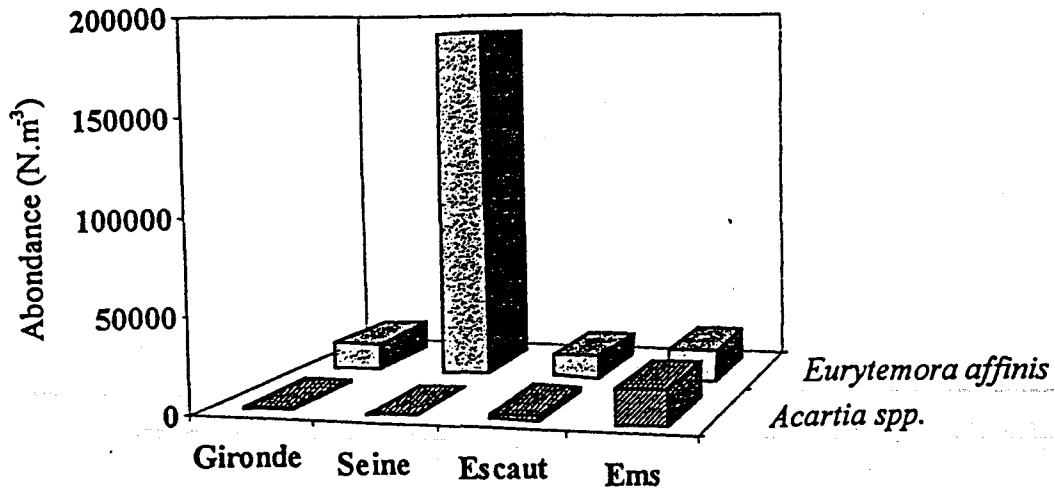


Figure 43 : Comparaison des densités printanières maximales des copépodes *Acartia spp.* et *Eurytemora affinis* dans les estuaires de Gironde, de Seine, de l'Escaut et de l'Ems (d'après Mouny, 1998).

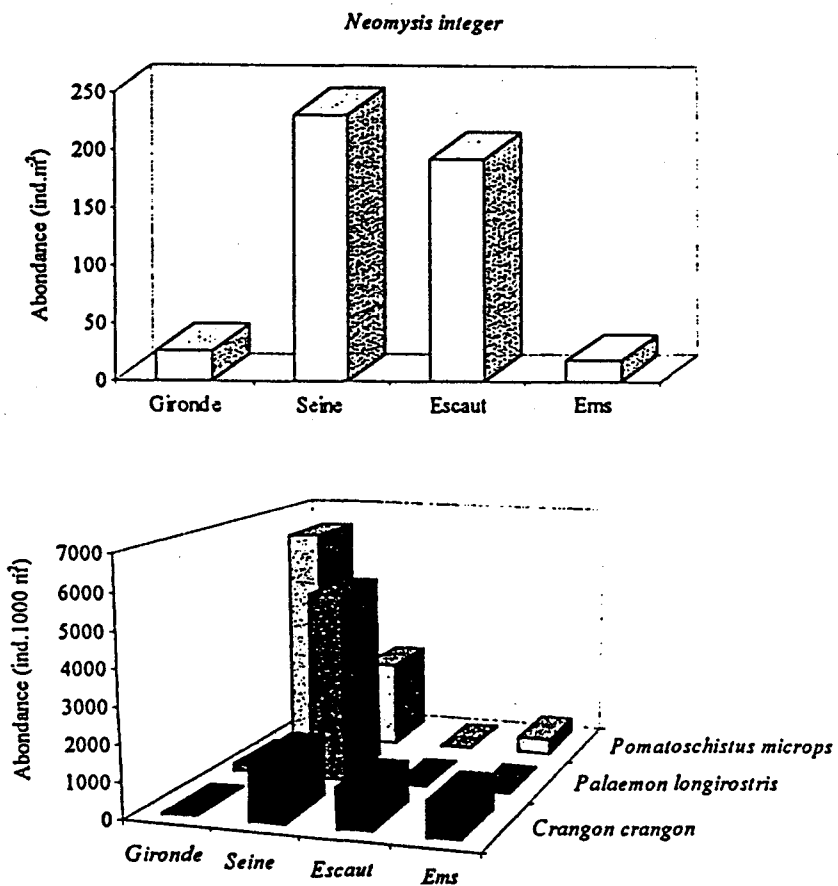


Figure 44 : Abondances maximales printanières des principales espèces suprabenthiques dans les estuaires de Gironde, de Seine, de l'Escaut et de l'Ems (d'après Mouny, 1998).

était essentiellement détritique et d'origine non caractérisée (65 - 85 % du COP total), ou issue des végétaux supérieurs (15 - 30 % du COP total).

La composition change peu au cours d'un cycle de marée. Par contre, en septembre sous des conditions d'étiage, une composante algale importante (12 - 31 %) a été mise en évidence à l'étalement de pleine mer. Les algues, d'origine estuarienne ou marine, sont principalement des diatomées, avec une plus faible proportion de chlorophycées et de dinoflagellées. Cette MOP algale est aussi piégée dans le bouchon vaseux.

Toutefois en crue comme en étiage les concentrations absolues (mg/L) mises en jeu indiquent un net transfert de la fraction détritique et terrigène de l'amont vers l'aval.

III.4. Description des communautés mésozooplanctoniques et suprabenthiques

III.4.a. La communauté mésozooplanctonique

La communauté mésozooplanctonique de l'estuaire de la Seine est semblable à celle des autres estuaires nord-européens (Gironde, Ems, Escaut).

Elle est dominée par les copépodes calanoïdes des genres *Acartia* et *Eurytemora*. L'estuaire de la Seine se singularise par rapport aux autres estuaires par de très fortes concentrations d'*Eurytemora affinis* au printemps ; celles-ci peuvent atteindre 200 000 individus par mètre cube (Mouny et Dauvin, 1995). Ceci est environ deux fois plus que les concentrations observées dans la Gironde, l'Ems ou l'Escaut (figure 43). Par contre, les concentrations printanières d'*Acartia* sont relativement faibles comparées à celles de l'Ems mais comparables à celles de la Gironde et de l'Escaut (figure 43).

D'une manière générale, la diversité spécifique du zooplancton diminue d'aval en amont (Mouny, 1998). Les espèces marines ne sont présentes en quantités importantes que dans la zone polyhaline ($18 < \text{salinité (P.S.U.)} < 30$). A l'inverse les espèces dulcicoles sont cantonnées dans la zone oligohaline ($0 < \text{salinité (P.S.U.)} < 5$). Par contre, la densité de population augmente de l'aval vers l'amont avec une dominance progressive d'*Eurytemora affinis* à partir de la zone oligohaline où la salinité est inférieure à 18 P.S.U. (Mouny, 1998).

Une étude statistique menée par le biais de l'analyse canonique des correspondances a mis en évidence que la salinité des eaux de surface est le paramètre le plus influent quant à la répartition des espèces zooplanctoniques dans l'estuaire (Mouny, 1998). Par contre, la

turbidité ou l'oxygène dissous semblent avoir une importance mineure. Toutefois les espèces marines sont toujours situées en aval du bouchon vaseux et les espèces dulcicoles sont toujours en amont de celui-ci (Mouny, 1998).

III.4.b. La communauté suprabenthique

D'un point de vue qualitatif la communauté suprabenthique dans l'estuaire de Seine est similaire à celle des autres grands estuaires nord-européens.

On y retrouve en particulier les mysidacés *Neomysis integer*, les crevettes décapodes *Palaemon longirostris* et *Crangon crangon* ainsi que le poisson gobiidé *Pomatoschistus microps*. Si on compare l'estuaire de la Seine à ceux de la Gironde, de l'Escaut et de l'Ems (Mouny, 1998), on constate qu'il se distingue par de fortes abondances en *Palaemon longirostris* d'environ 6 000 individus pour mille mètres cubes (figure 44). Par contre, les populations de *Crangon crangon* sont comparables dans les estuaires de la Seine, de l'Escaut et de l'Ems. Elles sont beaucoup plus faibles dans l'estuaire de la Gironde. Celui-ci se distingue par de fortes abondances en *Pomatoschistus microps* (figure 44). *Neomysis integer* est aussi présent en forte abondance ($> 200 \text{ ind.m}^{-3}$) dans l'estuaire de la Seine mais ceci est également observé dans l'estuaire de l'Escaut (Mouny, 1998). Par contre, les abondances en Gironde et dans l'Ems sont beaucoup plus faibles ($< 50 \text{ ind.m}^{-3}$).

IV. Echantillonnage

En avril et mai 1997 deux cycles de marée ont été réalisés en point fixe, l'un à la bouée 32 (le 17 et 18 avril 1997) et l'autre à la bouée 26 (le 14 et 15 mai 1997) située entre les ponts de Tancarville et de Normandie (figure 40).

Les prélèvements ont été effectués toutes les deux heures durant un cycle de marée complet. L'échantillonnage a été réalisé pour l'analyse de la matière organique particulaire en surface (1 mètre sous la surface) et au fond (1 mètre au dessus du fond). Les prélèvements pour l'analyse de la MOP sont réalisés à l'aide d'une bouteille de type NISKIN à bord du N/O Côtes de la Manche (CNRS/INSU).

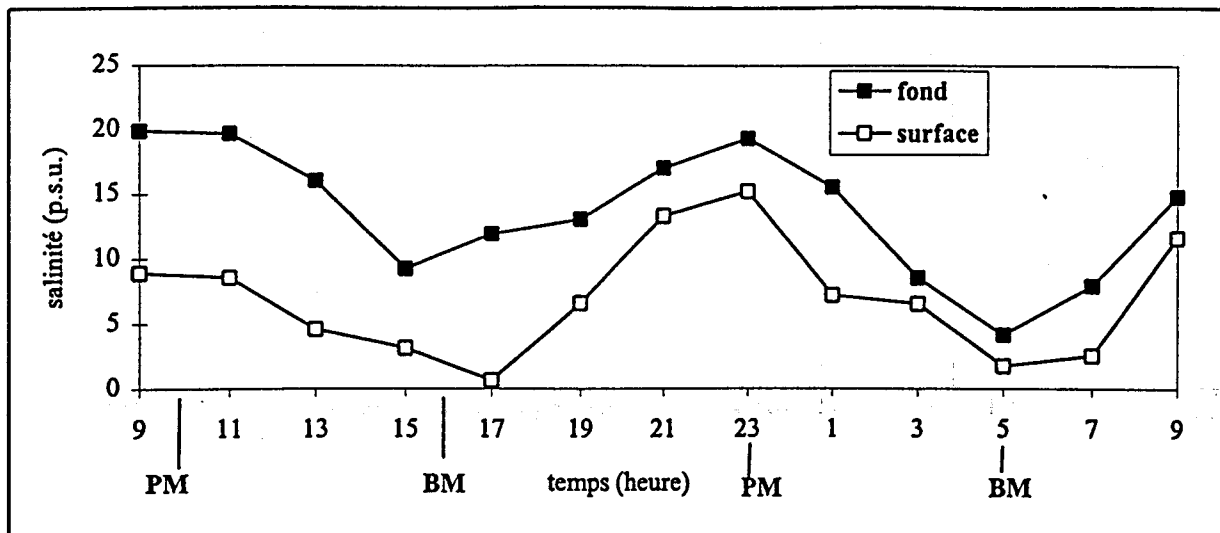


Figure 45 : Variations de la salinité dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

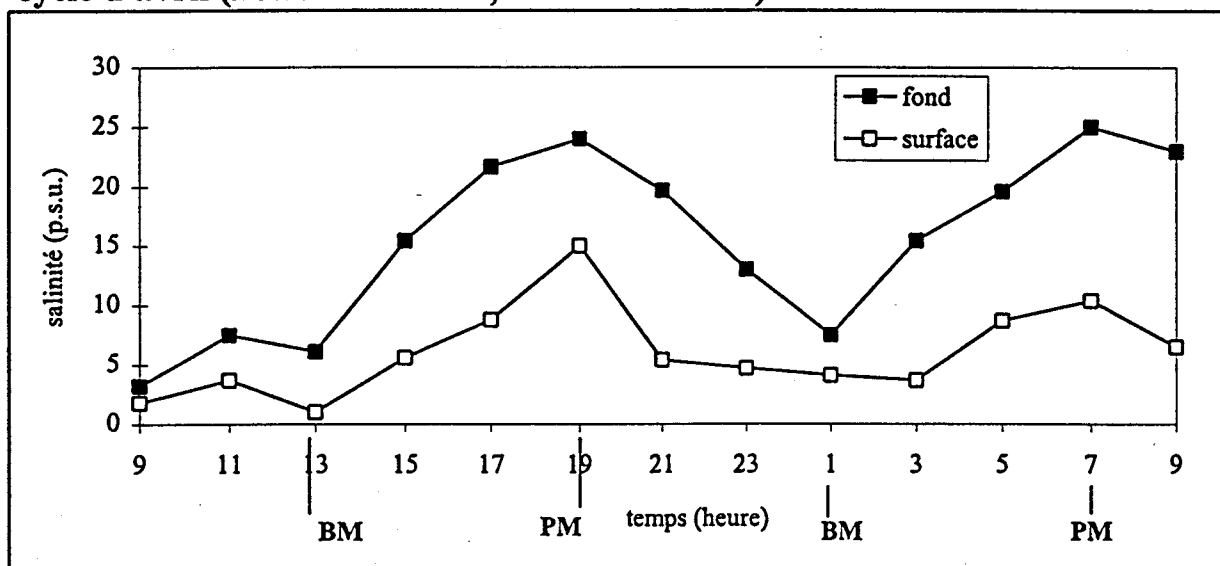


Figure 46 : Variations de la salinité dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

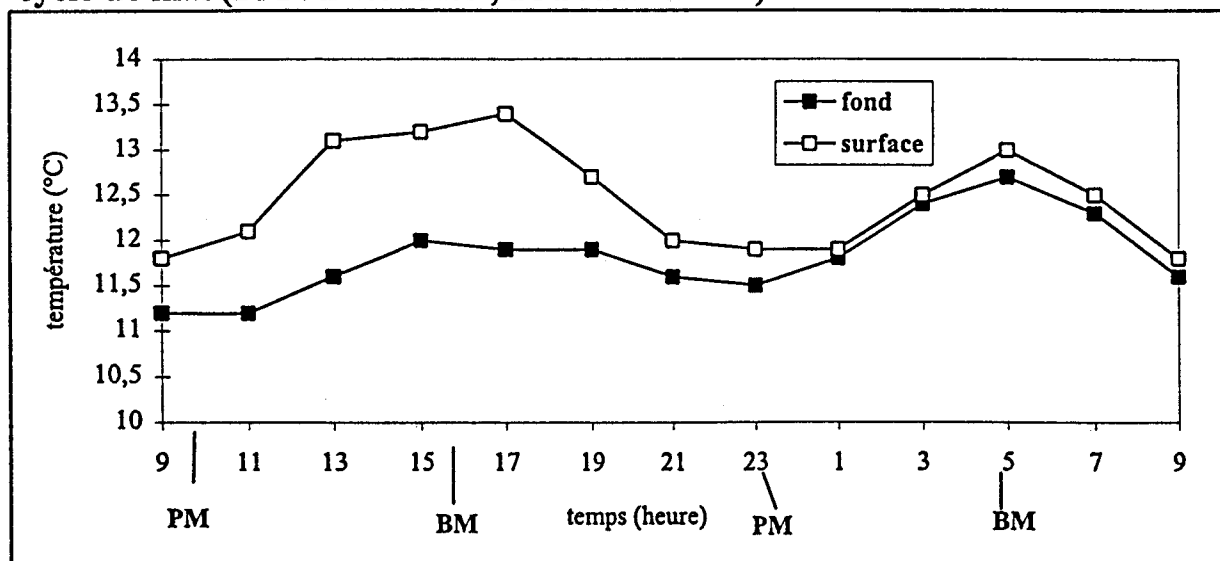


Figure 47 : Variations de la température dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril.

Trois filtrations ont été faites à partir du même volume d'eau prélevé, afin de déterminer :

- la composition en carbone et azote de la matière organique particulaire (COP et NOP).
- les concentrations de certains composés lipidiques (AG et ST).
- les teneurs en chlorophylle-a (chl a) et en phéopigments (phéo).

IV.1. Conditions hydrodynamiques

Les débits de la Seine mesurés à Poses par le service de la Navigation de la Seine de Rouen sont faibles (étiage) aussi bien en avril qu'en mai (tableau 11). Il sont en effet inférieurs au débit moyen de la Seine qui est de 450 m³.s⁻¹. Les deux campagnes de prélèvements ont été réalisées en morte-eau (tableau 11).

Localisation	Bouée 32 (B32)	Bouée 26 (B26)
Date	17 et 18 avril 1977	14 et 15 Mai 1997
Débit (m ³ .s ⁻¹)	272	398
Coefficient de marée	50	40

Tableau 11 : synoptique des missions réalisées en point fixe à la Bouée 26 et 32 dans l'estuaire de la Seine.

V. Etude de quelques paramètres physico-chimiques

V.1. Variations de la salinité, de la température et du pH

En avril, les minimums et les maximums de salinité mettent en évidence respectivement les basses mers (BM) et les pleines mers (PM) (figure 45). Les PM sont observées approximativement à 10 heures d'une part et à 23 heures d'autre part, les BM sont situées vers 16 h et 5 h. Il existe en effet un décalage par rapport aux heures des annuaires de marée données pour le Havre. Pour le mois de mai (figure 46), les PM sont observées à t = 19 h et t = 7 h et les BM à t = 13 h et t = 1 h.

Le gradient de salinité est plus important pour la deuxième PM. La différence de salinité fond-surface donne une indication sur la stratification de la colonne d'eau. En mai, elle est maximum à PM et minimale à BM. Cette différence n'est cependant pas nulle à BM et ceci s'explique par le débit d'étiage de la Seine qui n'entraîne pas un effet de chasse

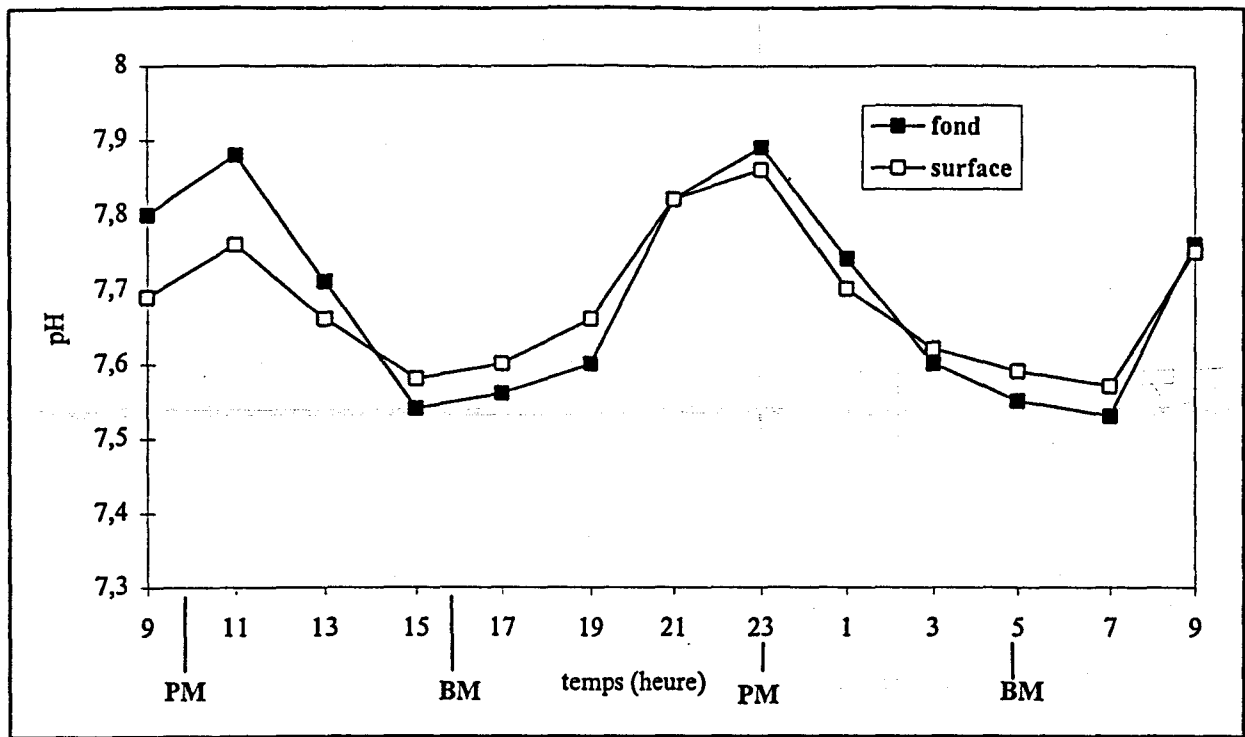


Figure 48 : Variations du pH dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

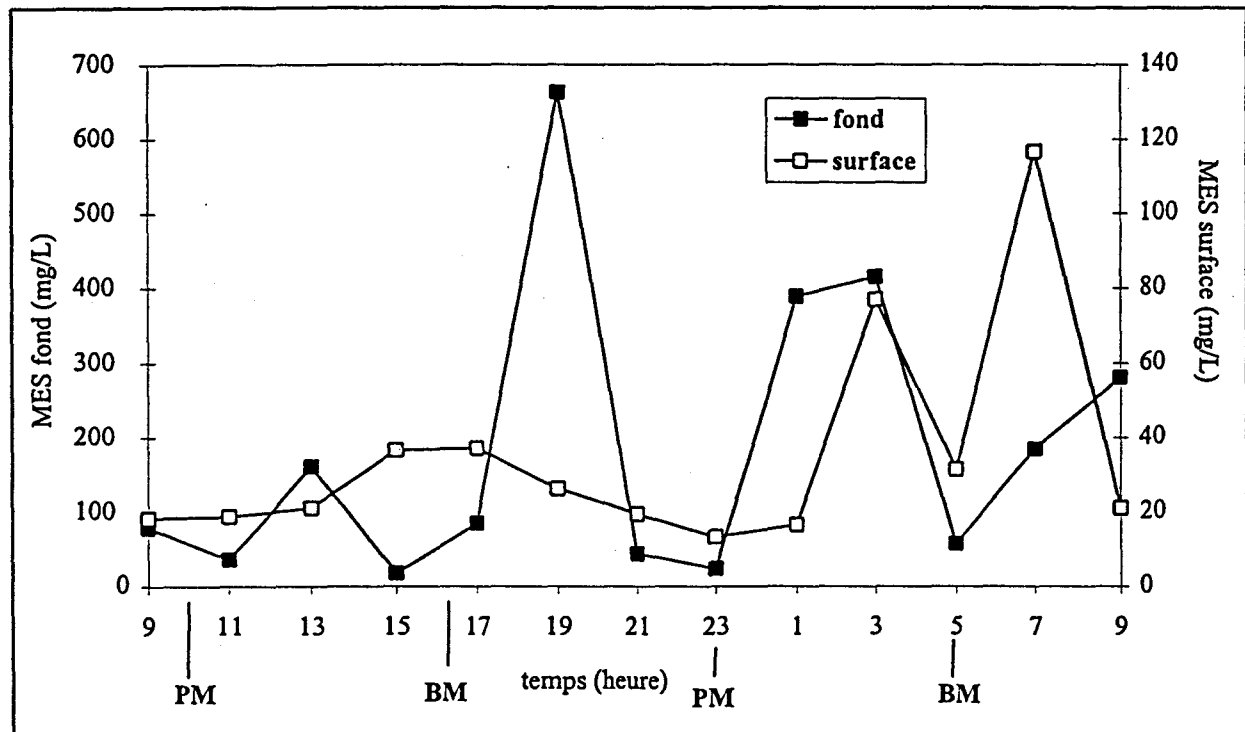


Figure 49 : Variations des MES dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril.

suffisamment important. Par ailleurs, on peut noter que l'importance de la stratification n'est pas constante pour deux PM consécutives. Ceci est aussi vrai en avril pour les BM. Le mélange des eaux douces et des eaux de mer n'est donc jamais identique pour deux cycles de marée consécutifs.

Les variations de la température sont uniquement représentées pour le cycle d'avril sur la figure 47. Les températures de surface sont toujours supérieures aux températures de fond. Celles-ci varient en sens opposées à la salinité que ce soit en surface ou au fond. A cette période de l'année, les eaux douces sont plus chaudes que les eaux marines. On constate aussi une différence de température, entre la surface et le fond, importante à la BM de 16 h. Celle-ci coïncide avec le gradient de salinité.

Le pH du cycle d'avril (figure 48) présente des variations similaires à celles de la salinité. Les maximums (7,7 - 7,9) sont observés pour les eaux les plus marines aux étales de PM. Les minimums sont constatés pour les eaux les plus douces à BM qui sont caractérisées par un pH voisin de 7,5.

V.2. Variations des matières en suspension (MES) et du COP

Les MES, qui sont principalement constituées de matières minérales tendent à sédimenter aux étales, en particulier autour des étales de PM (figure 49). Nous n'avons ici que les données correspondant au mois d'avril.

Les remises en suspension des MES sont dues aux fort courants qui se produisent pendant le jusant ou le flot. Dans les eaux de fond, les maximums sont observés une ou deux heures avant la BM et après la BM. Les maximums en surface dus aux courants de jusant sont observés avant ou à la BM. Par contre, les remises en suspension de flot ne sont pas observées en surface, quand il y a une stratification entre la surface et le fond. Dans le cas contraire, on peut observer la remise en suspension du flot en surface ceci est le cas par exemple pour la deuxième BM d'avril (figure 49).

Les maximums en MES sont de 120 mg/L en surface et 700 mg/L au fond pour des conditions d'étiage et de morte eau. Ces valeurs sont faibles comparativement à ce qui avait été trouvé par Bodineau (1996), 1300 mg/L en surface et 3000 mg/L au fond pour des

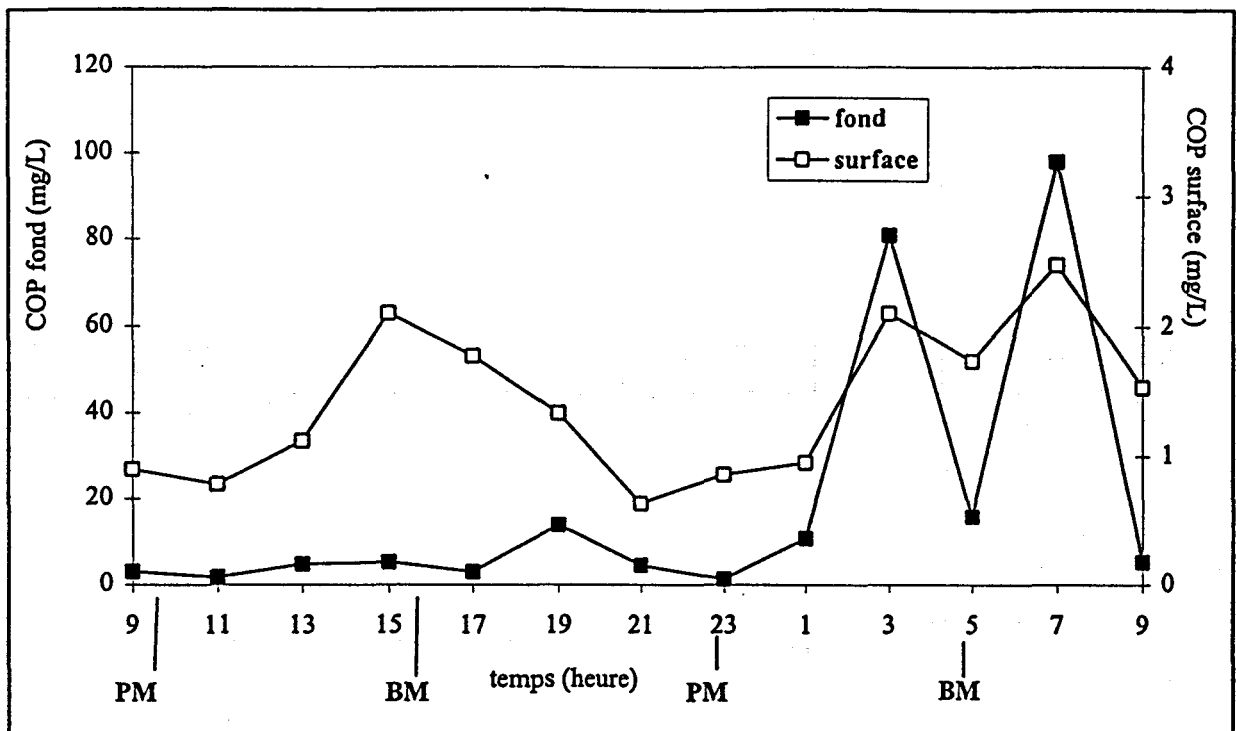


Figure 50 : Variations du COP dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

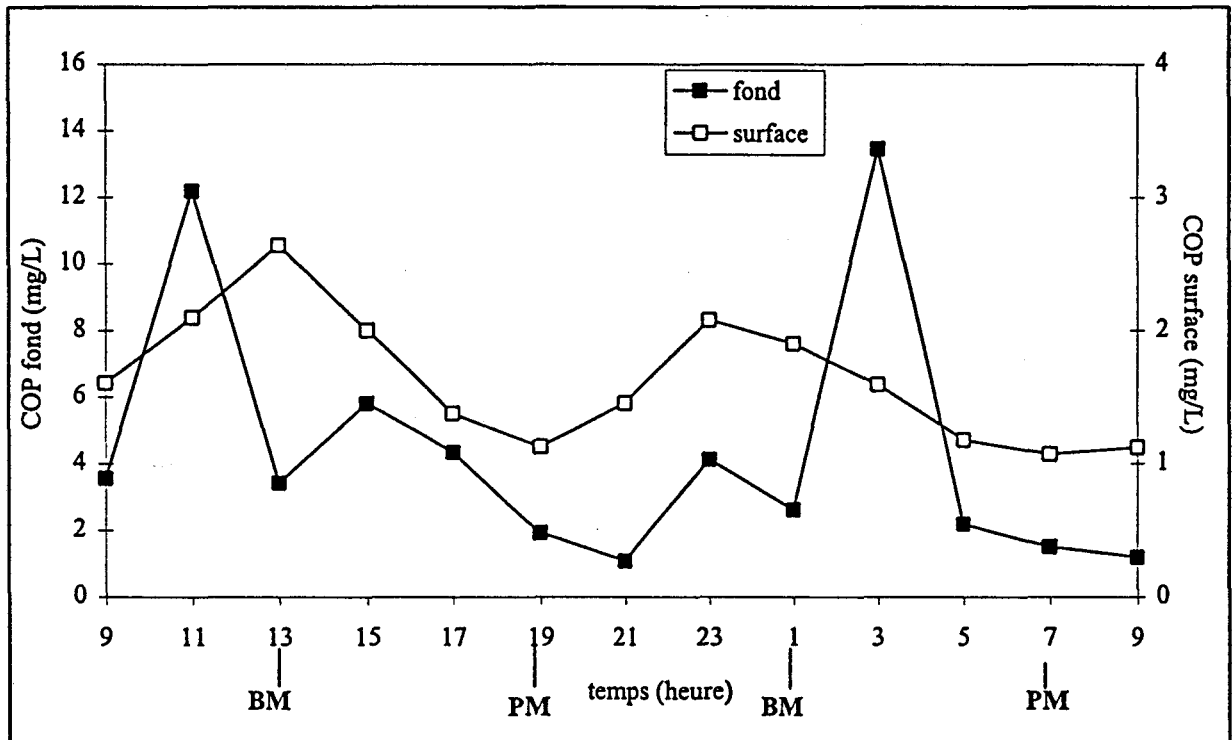


Figure 51 : Variations du COP dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

conditions d'étiage et de vive eau. Ceci permet de mettre en évidence l'importance de l'action de la marée sur les teneurs en particules remises en suspension.

Le carbone organique particulaire (COP), exprimé en mg/L (figures 50 et 51), et les MES ont des variations assez similaires. Aussi les variations du COP en mai (figure 51) peuvent-elles représenter, au moins approximativement, celles des MES (figure 49). On distingue la remise en suspension du jusant dans les eaux de surface, et de fond. Par contre, les remises en suspension de flot ne sont observées qu'au fond. Ceci peut se traduire par des corrélations linéaires. C'est le cas en avril dans les eaux de surface ($COP = 0,0163 * MES + 0,8366$, $r = 0,81$, $n=13$ et $p < 0,001$). La proportion en COP dans les MES est de 1,6 %. Dans les eaux de fond, la corrélation est moins bonne ($COP = 0,0152 * MES + 3,2794$, $r = 0,63$, $n=13$ et $p < 0,02$) puisque les points correspondants aux remises en suspension avant et après la BM de 5 h s'écartent sensiblement de la droite ceci est dû à un enrichissement en COP par rapport aux MES (20 et 60 %). Les épisodes de fortes remises en suspension mettent en jeu les particules organiques en proportion plus importante que les particules purement minérales ; les secondes sont probablement plus lourdes que les premières. Des corrélations linéaires entre le COP et les MES ont déjà été calculées pour des échantillons prélevés dans la même zone. Ainsi, Bodineau *et al.* (1998a) ont mis en évidence que le COP dans les eaux de surface et de fond représentait 2,2 % des MES pour des prélèvements réalisés en septembre 1995 dans des conditions d'étiage et de vive eau. Néanmoins Chiffoleau *et al.* (1994) toujours dans la Seine ont calculé des proportions plus élevées (6 ± 2 %). Dans d'autres estuaires des valeurs comparables ont été déterminées, de l'ordre de 3 % dans l'estuaire de la Loire (Meybeck *et al.*, 1988), 5 % dans celui de la Columbia aux USA (Small et Morgan, 1994).

Le rapport C/N (tableau 12) varie peu dans les eaux de fond et de surface et des valeurs proches ont été trouvées pour les deux cycles. Ceci indique que la composition globale de la matière organique est relativement constante en avril et en mai dans les eaux de surface et de fond.

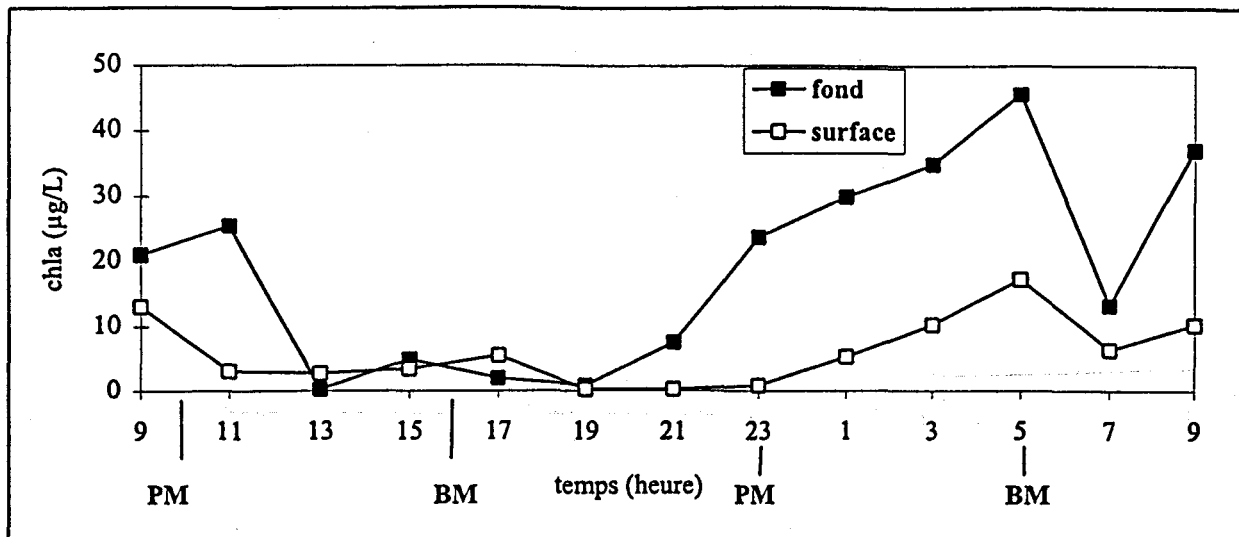


Figure 52 : Variations de la chlorophylle-a (chl a) dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

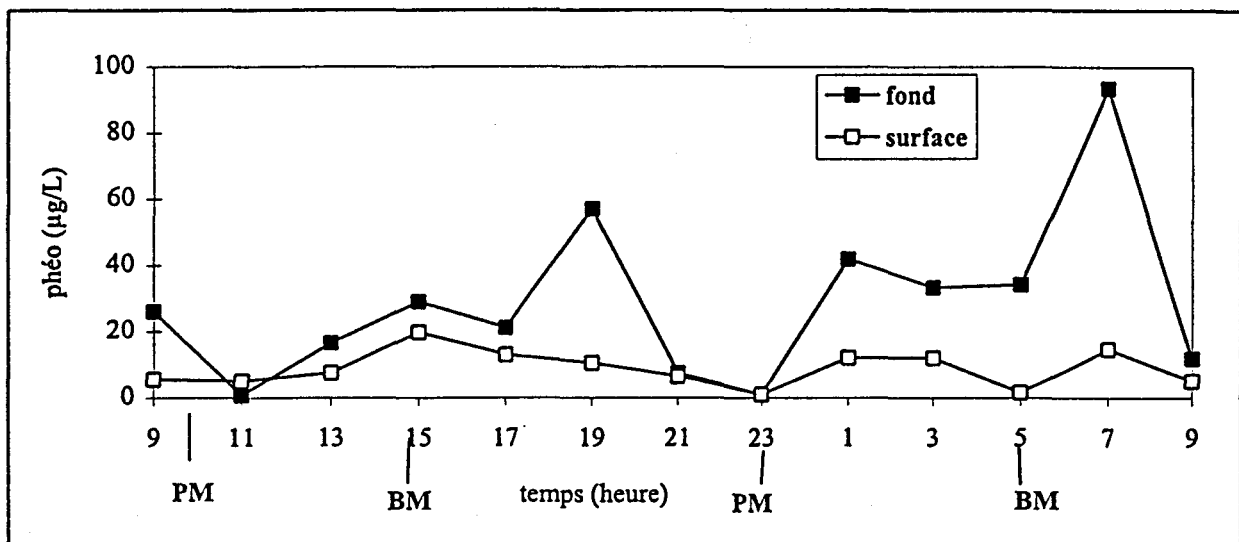


Figure 53 : Variations des phéopigments (phéo) dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril.

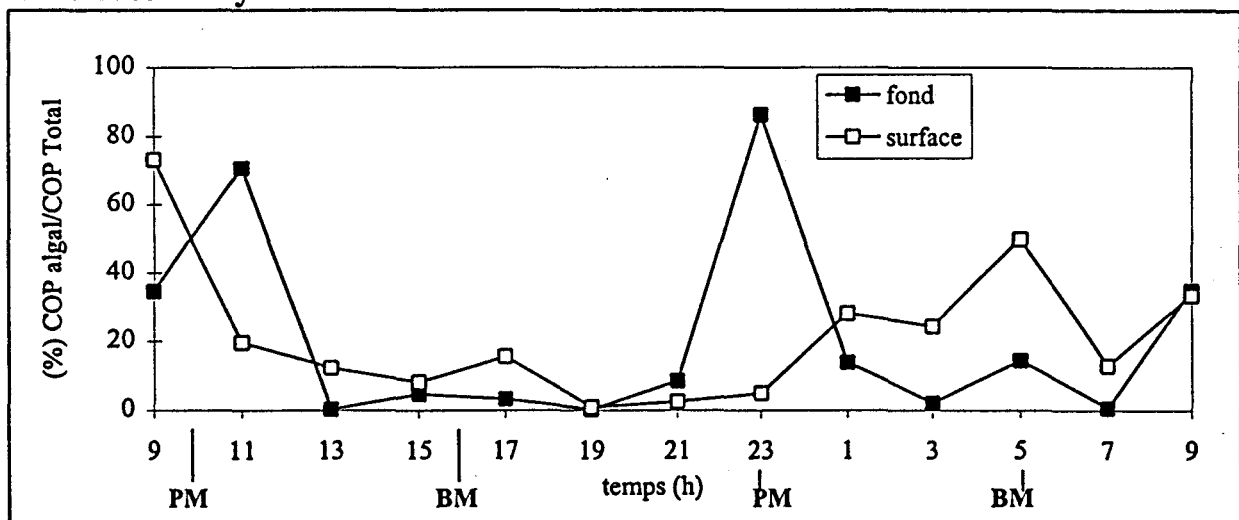


Figure 54 : Variations du % de COP algal par rapport au COP total dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril.

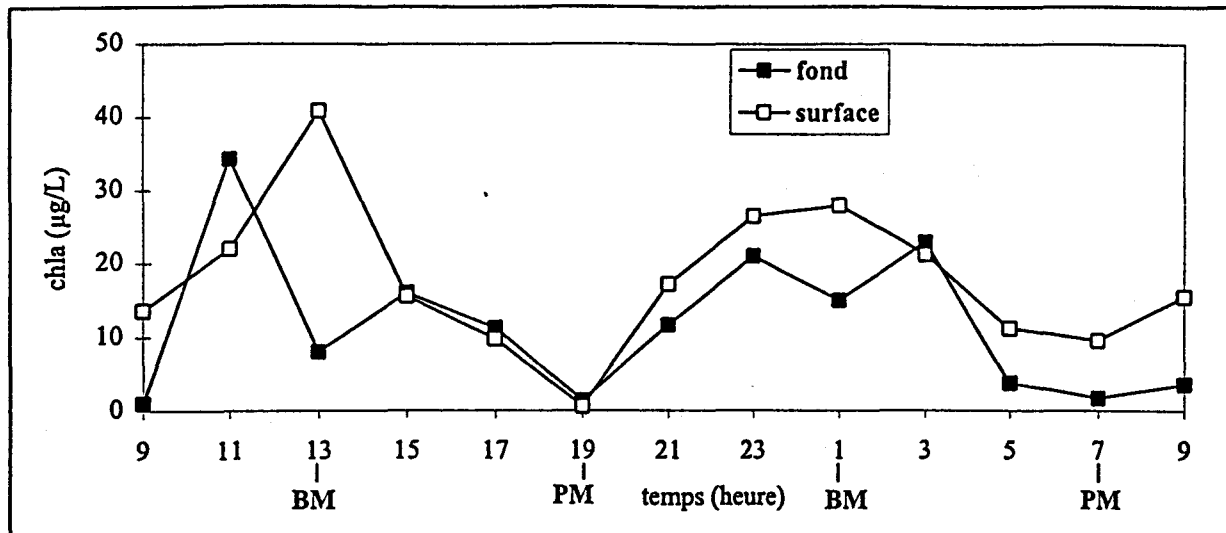


Figure 55 : Variations de la chlorophylle-a (chl a) dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

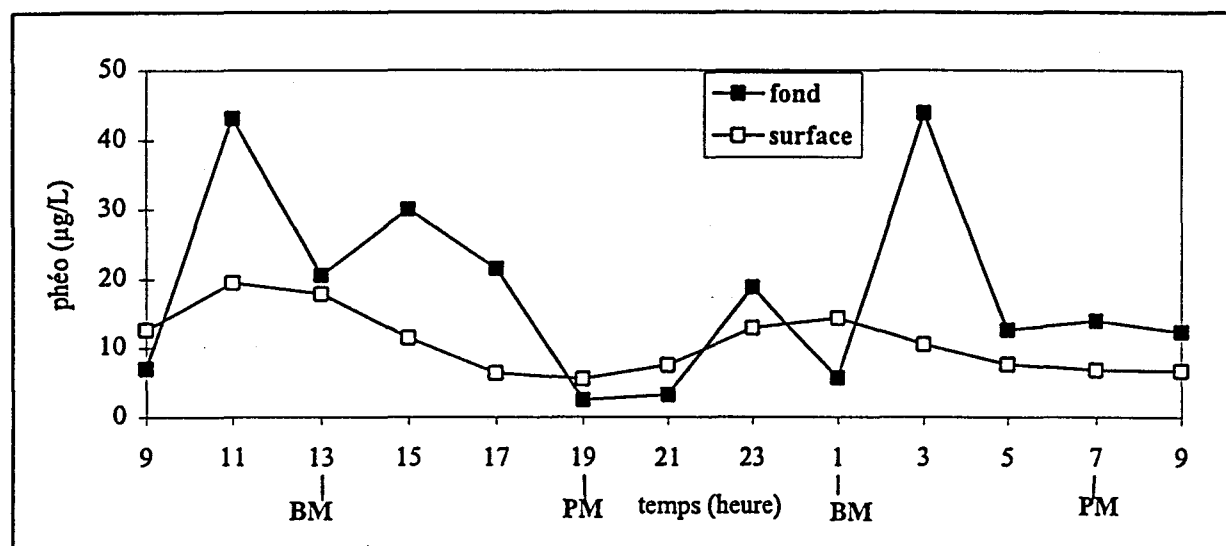


Figure 56 : Variations des phéopigments (phéo) dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

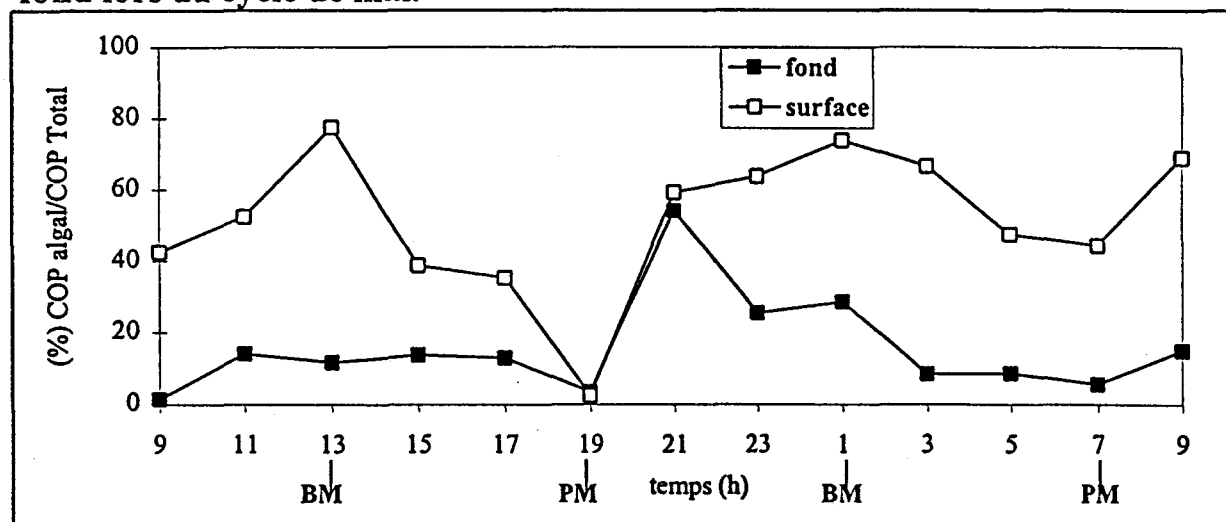


Figure 57 : Variations du % de COP algal par rapport au COP total dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

C/N	cycle d'Avril	cycle de Mai
Surface	7,8 ± 1,3	8,0 ± 0,4
Fond	7,8 ± 0,7	7,0 ± 0,5

Tableau 12 : variations du rapport atomique C/N lors des cycles de marée d'avril et de mai 1997.

Les remises en suspension de flot et de jusant n'ont pas d'influence significative sur le rapport C/N. Ceci a aussi été constaté en hiver en situation de crue (Bodineau, 1996). Les valeurs du rapport C/N étaient cependant plus élevées (entre 9 et 11) ce qui traduit probablement une plus grande influence de la MOP détritique d'origine terrigène. Néanmoins le rapport C/N peut parfois varier de manière significative. Ainsi au mois de septembre, dans des conditions d'étiage des minimums proches de 4 en surface et au fond, ont été observés à l'étale de pleine mer (Bodineau, 1996). Ils traduisent la présence de phytoplancton marin ou estuarien, qui est d'autant plus facilement mis en évidence que les particules purement détritiques ont alors tendance à sédimenter.

V.3. Variations de la chlorophylle-a, des phéopigments et du COP algal

Les variations de la chlorophylle-a lors du cycle d'avril (figure 52) sont assez complexes. Les maximums sont observés à la deuxième BM en surface et au fond (13 à 45 µg/L). Par contre, de faibles concentrations sont observées à la première BM dans les eaux de fond et aux pleines mer dans les eaux de surface. Les concentrations en chlorophylle-a sont relativement élevées dans les eaux de fond. Elles sont, à deux exceptions près, supérieures à celles de surface. C'est aussi le cas pour les phéopigments (figure 53). Ceci indique une accumulation de cellules phytoplanctoniques vivantes et détritiques dans les eaux de fond. Ces cellules semblent provenir des eaux douces. Cependant, cet apport n'a pas une importance équivalente à chaque BM.

En mai, les variations de la chlorophylle-a (figure 55) sont plus simples. Dans les eaux de surface des maximums aux BM et des minimums aux PM sont constatés. La valeur obtenue en surface à la première basse mer est d'environ 40 µg/L et est supérieure à celle obtenue pour la seconde qui est d'environ 30 µg/L. Les minimums sont observés à la PM. Dans ce cas encore les variations ne sont pas identiques pour deux cycles de marée consécutifs. Les teneurs en surface tendent à être supérieures ou égales à celles des eaux de

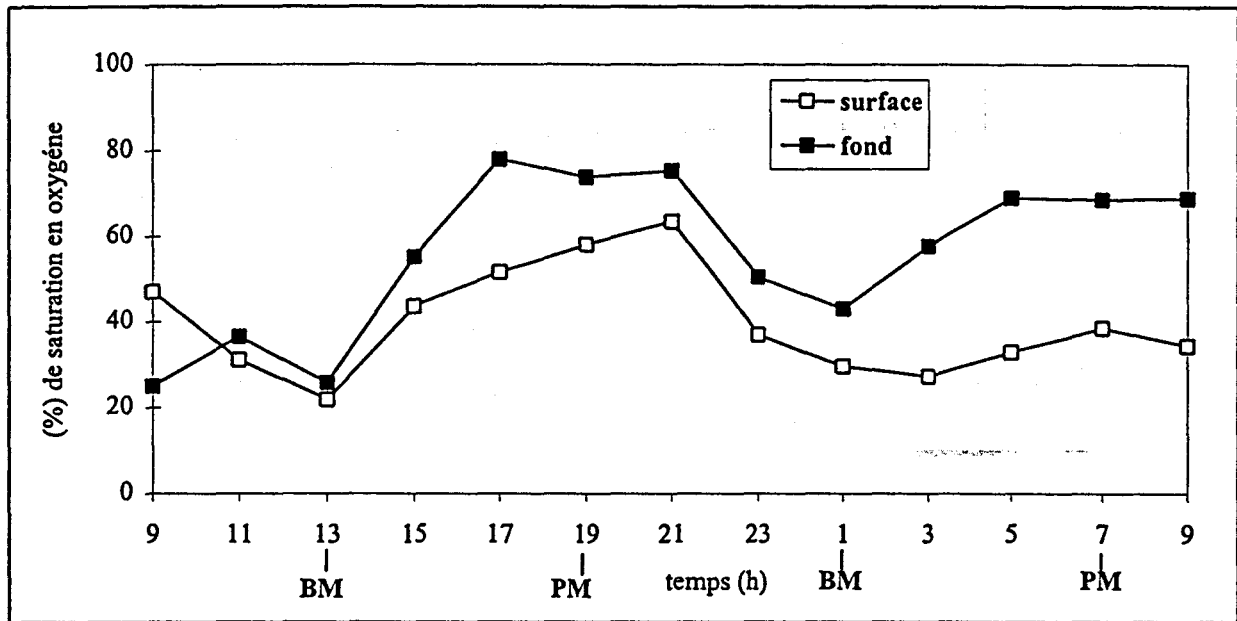


Figure 58 : Variations du pourcentage de saturation en oxygène dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

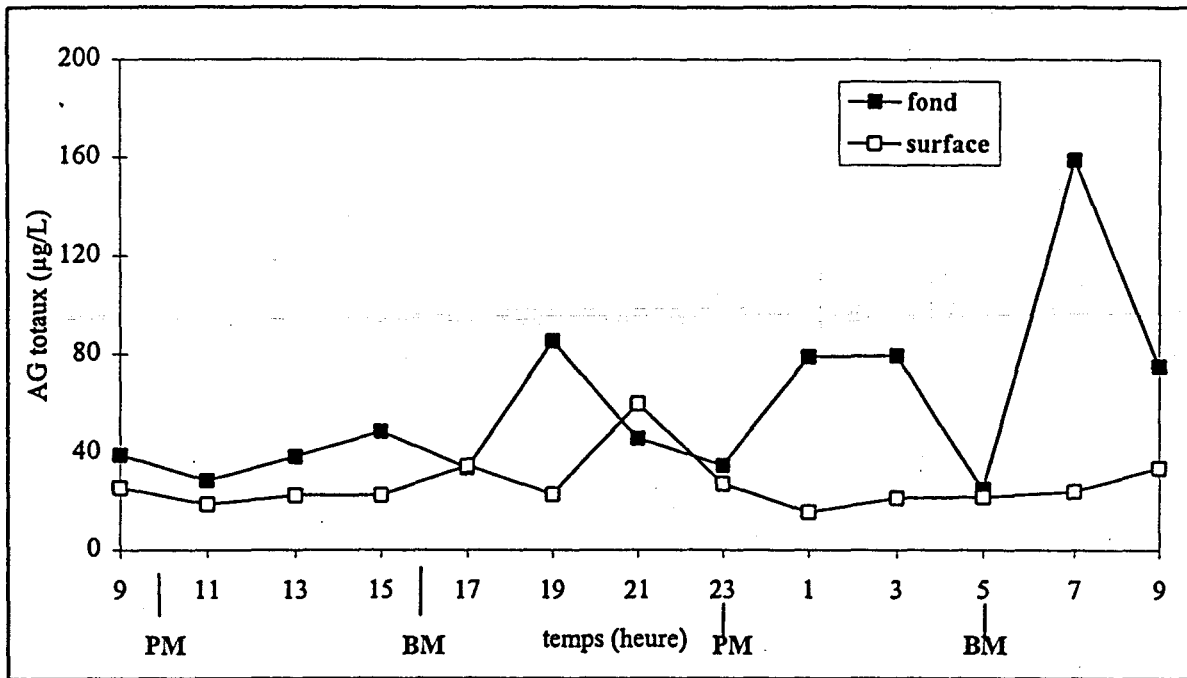


Figure 59 : Variations de la concentration en AG totaux dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

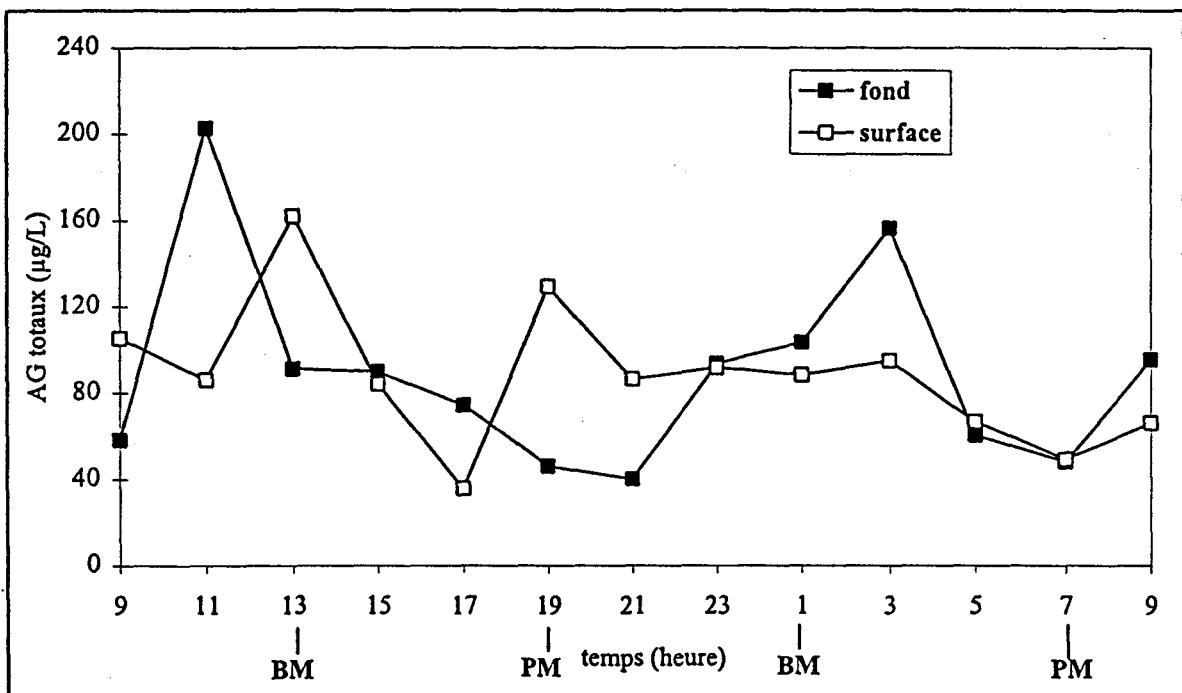


Figure 60 : Variations de la concentration en AG totaux dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

fond. Dans les eaux de fond, les variations de la chlorophylle-a sont très similaires à celle du COP. C'est aussi le cas des phéopigments (figure 56) qui représentent les cellules algales détritiques dans les eaux de surface et de fond.

Les eaux de surface de mai (figure 58), plus dessalées, sont moins saturées en oxygène dissous que les eaux de fond au caractère plus marin. Ceci se traduit par des minimums de saturation aux basses mers en surface et au fond. Comme le maximum en chlorophylle-a donc en phytoplancton est observé à basse mer, ceci indique que ces organismes sont peu actifs du point de vue de la photosynthèse.

Dans les eaux de surface, les teneurs en chlorophylle-a observées en mai sont supérieures à celles observées en avril. Ceci suggère que le développement phytoplanctonique en amont de la zone de mélange s'est amplifié entre ces deux mois.

La teneur en COP algal peut être obtenue en multipliant la concentration en chlorophylle a par un facteur de 50. Les variations du pourcentage de COP algal par rapport au COP total sont représentées sur les figures 54 et 57 et ceci en avril et en mai. En avril, les variations sont relativement complexes et les maxima ne sont pas observés au même moment pour les deux cycles de marée consécutifs. En mai dans les eaux de surface les pourcentages maximaux sont observés aux deux BM. Le COP algal représente alors entre 70 et 80 % du COP total. Ceci confirme l'apport phytoplanctonique issu des eaux douces. Une diminution de proportion est observée au niveau de la PM. Cependant, comme en avril, les variations ne sont pas similaires d'un cycle de marée à l'autre.

VI. Variations des acides gras

VI.1. Variations des AG totaux en avril et mai

En avril, les concentrations en AG totaux varient entre 20 et 60 $\mu\text{g/L}$ en surface et entre 20 et 160 $\mu\text{g/L}$ au fond (figure 59). En mai, ces concentrations varient respectivement entre 40 et 160 $\mu\text{g/L}$ et 40 et 200 $\mu\text{g/L}$ (figure 60). Entre ces deux périodes on constate donc principalement une augmentation des teneurs en surface alors que celles du fond sont relativement comparables. Par contre, ces gammes de concentrations sont plus faibles que celles déterminées en septembre dans des conditions d'étiage et en février dans des conditions

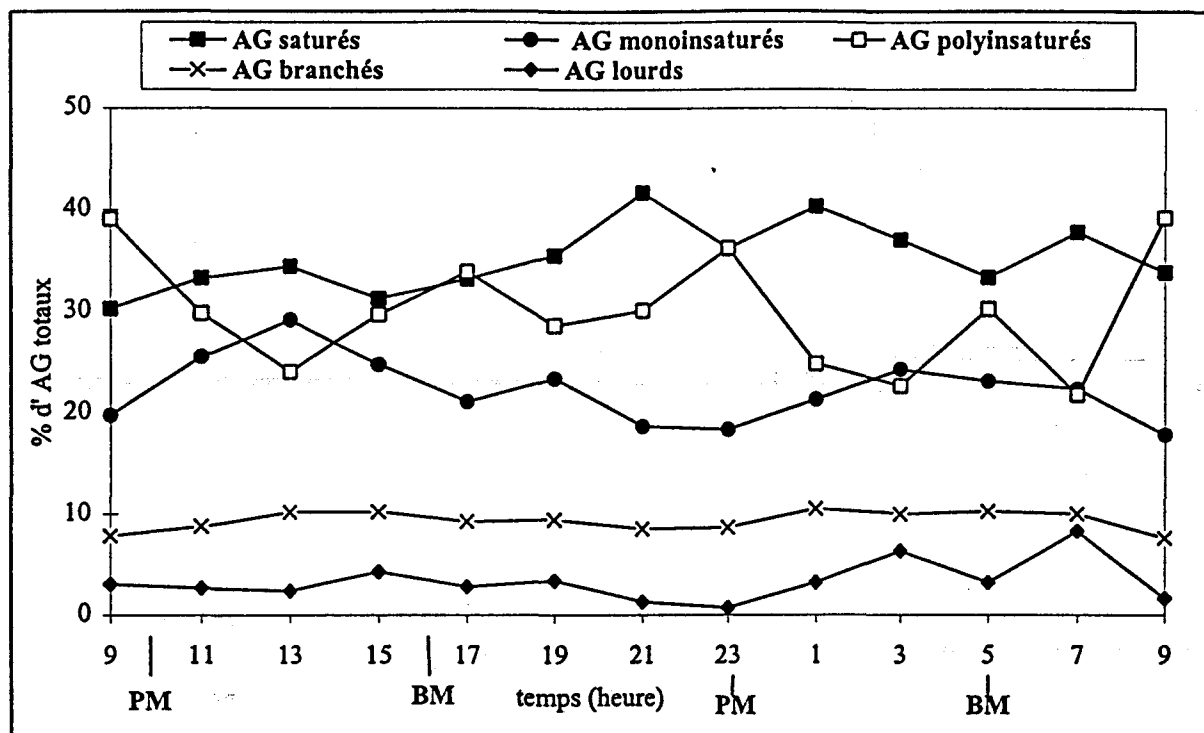


Figure 61 : Variations des pourcentages des différentes catégories d'acides gras dans les eaux de surface lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

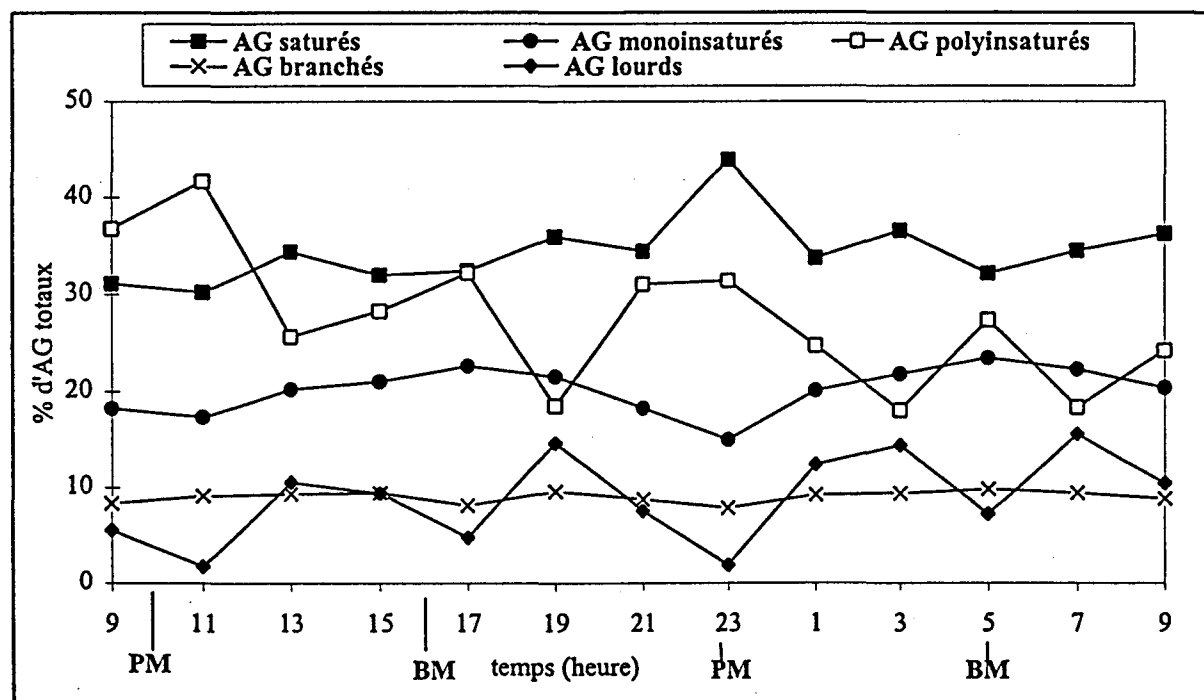


Figure 62 : Variations des pourcentages des différentes catégories d'acides gras dans les eaux de fond lors du cycle d'avril.

de crue par Bodineau (1996). Les concentrations en surface et au fond variaient alors entre 30 et 690 µg/L (septembre) et entre 20 et 420 µg/L (février).

Les variations des AG totaux et du COP sont relativement dissemblables notamment dans les eaux de surface. La corrélation entre ces deux grandeurs n'est pas significative en avril en surface (tableau 13). Elle l'est cependant en mai avec néanmoins un coefficient de corrélation peu élevé (0,57). Par contre, les corrélations sont meilleures dans les eaux de fond. Ceci est sans doute dû aux augmentations de concentrations qui sont souvent observées lors des remises en suspension de flot et de jusant. Par contre, aux étales de PM, on observe des minimums.

Corrélation AG/COP	a	b	R	n	ρ
Surface en avril	-0,0007	26,6	0,29	13	>0,1
Fond en avril	0,0007	32,0	0,79	13	<0,001
Surface en mai	0,0293	18,5	0,57	13	<0,05
Fond en mai	0,0076	33,5	0,87	13	<0,001

Tableau 13 : corrélation linéaire ($Y=aX + b$) entre les concentrations en AG totaux de surface et de fond (Y) exprimées en équivalent carbone (facteur de multiplication de 0,75) et les concentrations en COP (X) en avril et en mai ; n est le nombre de prélèvements, R le coefficient de corrélation et ρ le niveau de signification.

En avril et mai, les AG totaux sont corrélés (et significatifs) au COP dans les eaux de fond. Les AG sont en proportions constantes dans le COP et ils représentent 0,07-0,08 % de ce dernier (tableau 13).

VI.2. Variations des différentes catégories d'acides gras

En avril, les acides gras saturés sont prédominants en surface et au fond (figures 61 et 62). On ne peut leur attribuer une origine précise mais leur forte proportion est peut être due au caractère détritique de la matière organique. Globalement, ils ont des variations opposées à celles des polyinsaturés. Les proportions de ceux-ci tendent à augmenter à BM et à PM. Elles sont comprises entre 15 et 45 %. Les polyinsaturés étant synthétisés par les algues phytoplanctoniques, l'empreinte de ces organismes est plus évidente aux périodes où il y a peu de courant. Les cellules phytoplanctoniques, du moins celles qui sont libres, sédimentent plus lentement que les particules purement détritiques en agrégats. Dans les eaux de fond les

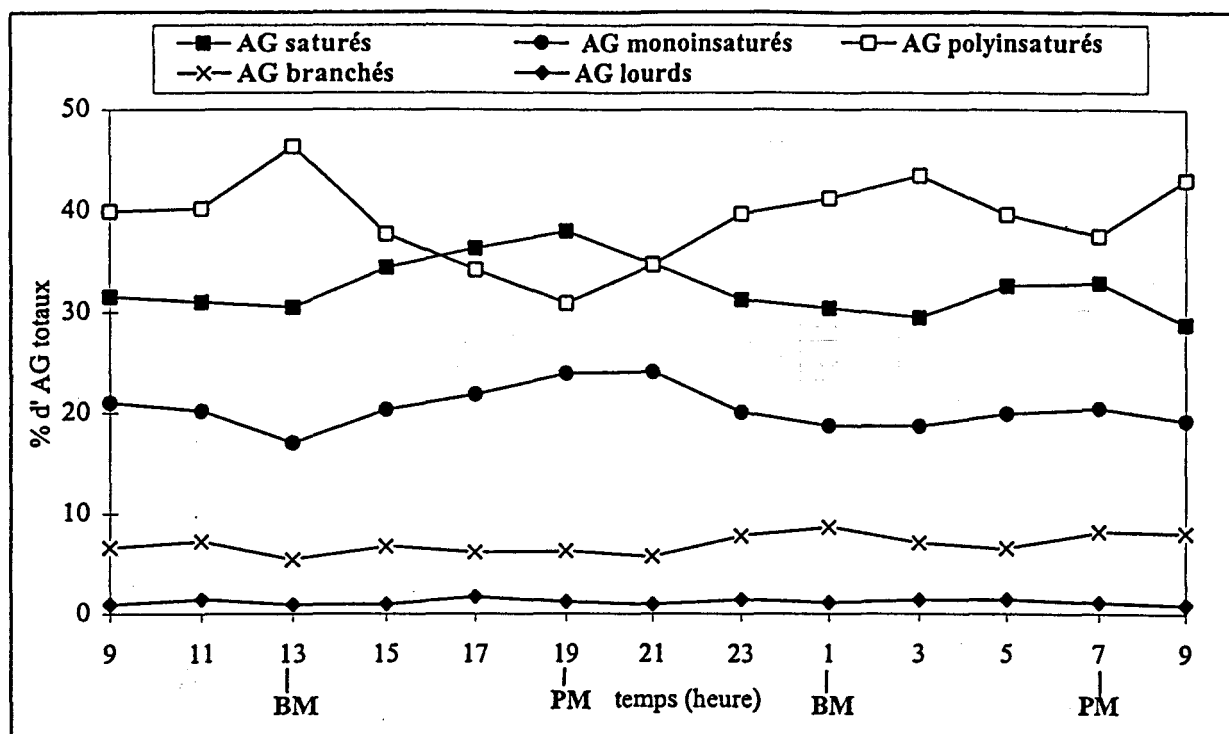


Figure 63 : Variations des pourcentages des différentes catégories d'acides gras dans les eaux de surface lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

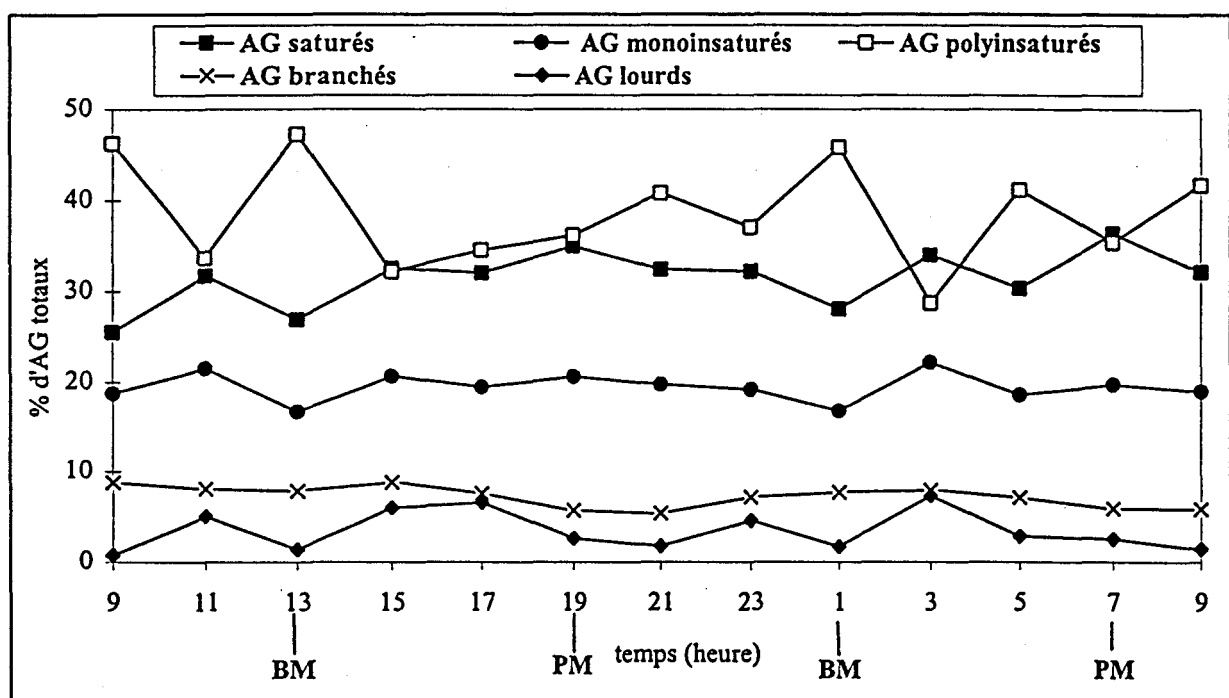


Figure 64 : Variations des pourcentages des différentes catégories d'acides gras dans les eaux de fond lors du cycle de mai.

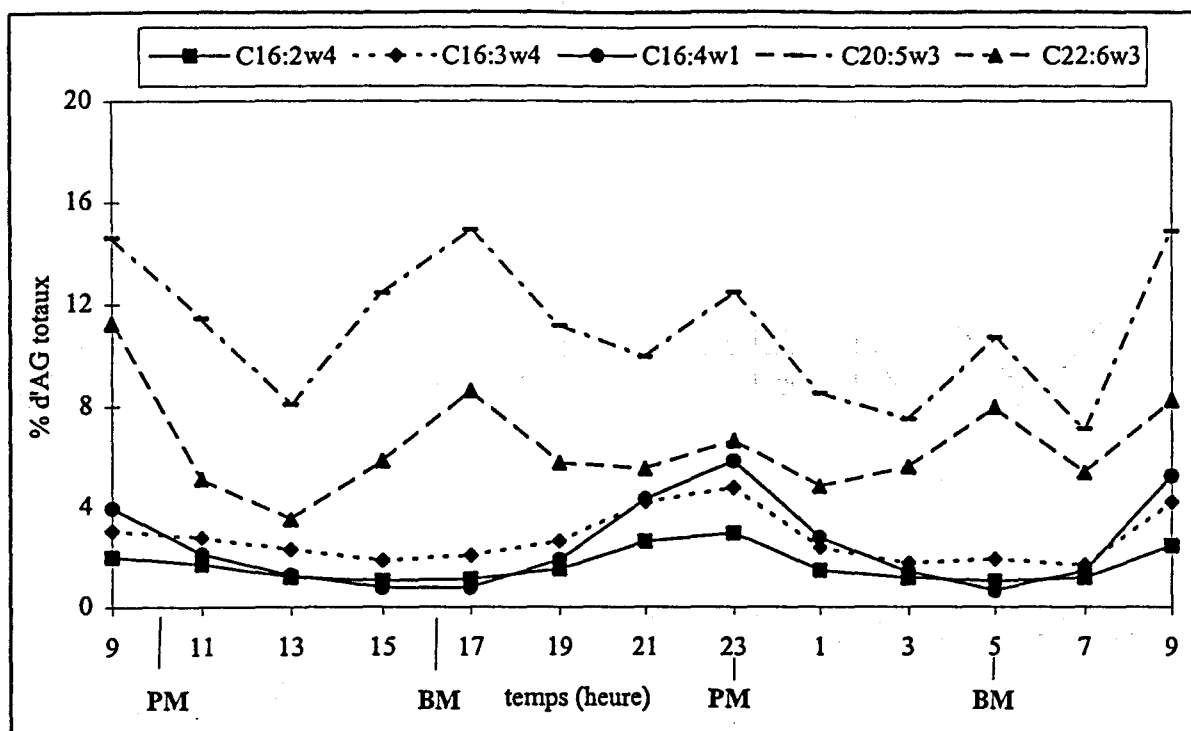


Figure 65 : Variations des proportions des différents acides gras individuels d'origine planctonique dans les eaux de surface lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

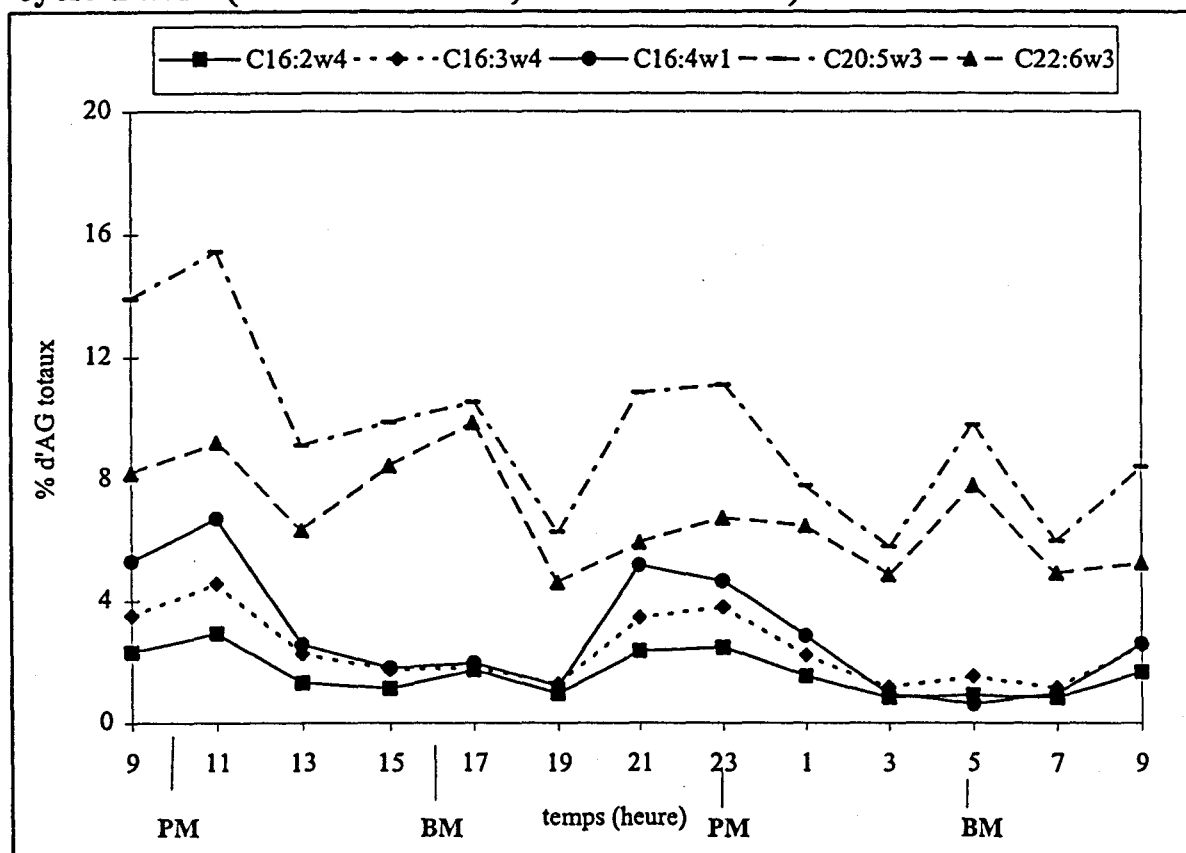


Figure 66 : Variations des proportions des différents acides gras individuels d'origine planctonique dans les eaux de fond lors du cycle d'avril.

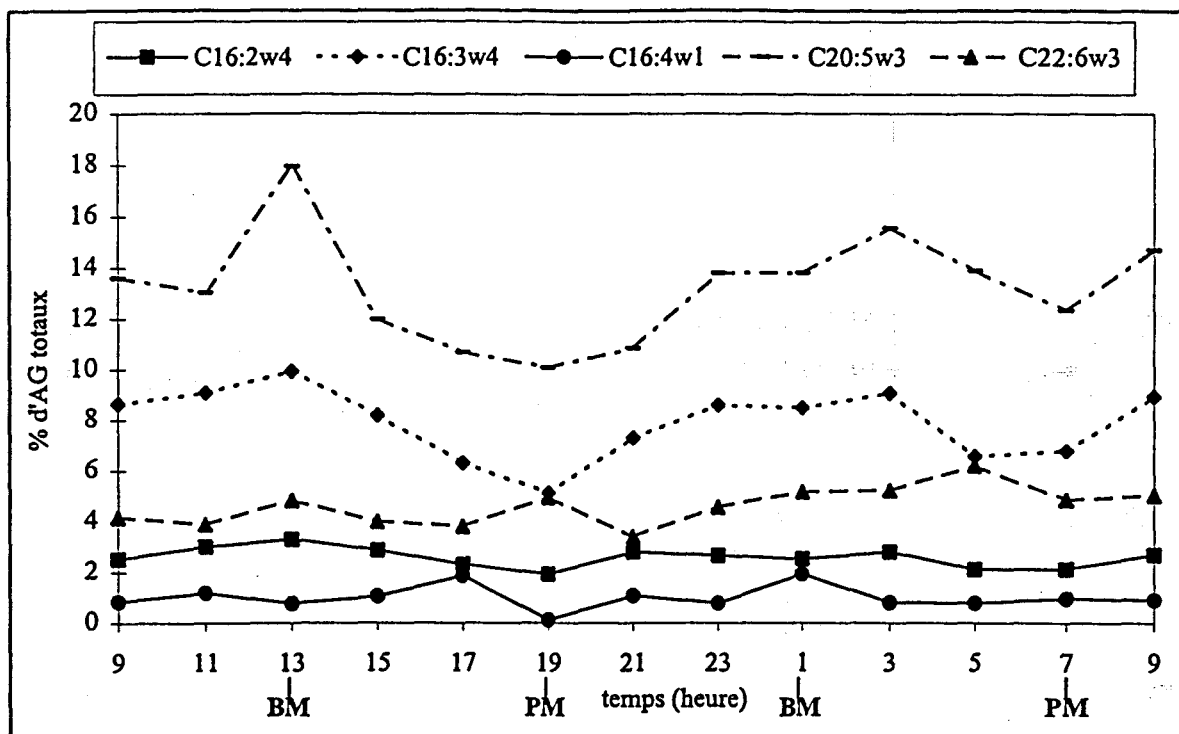


Figure 67 : Variations des proportions des différents acides gras individuels d'origine planctonique dans les eaux de surface lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

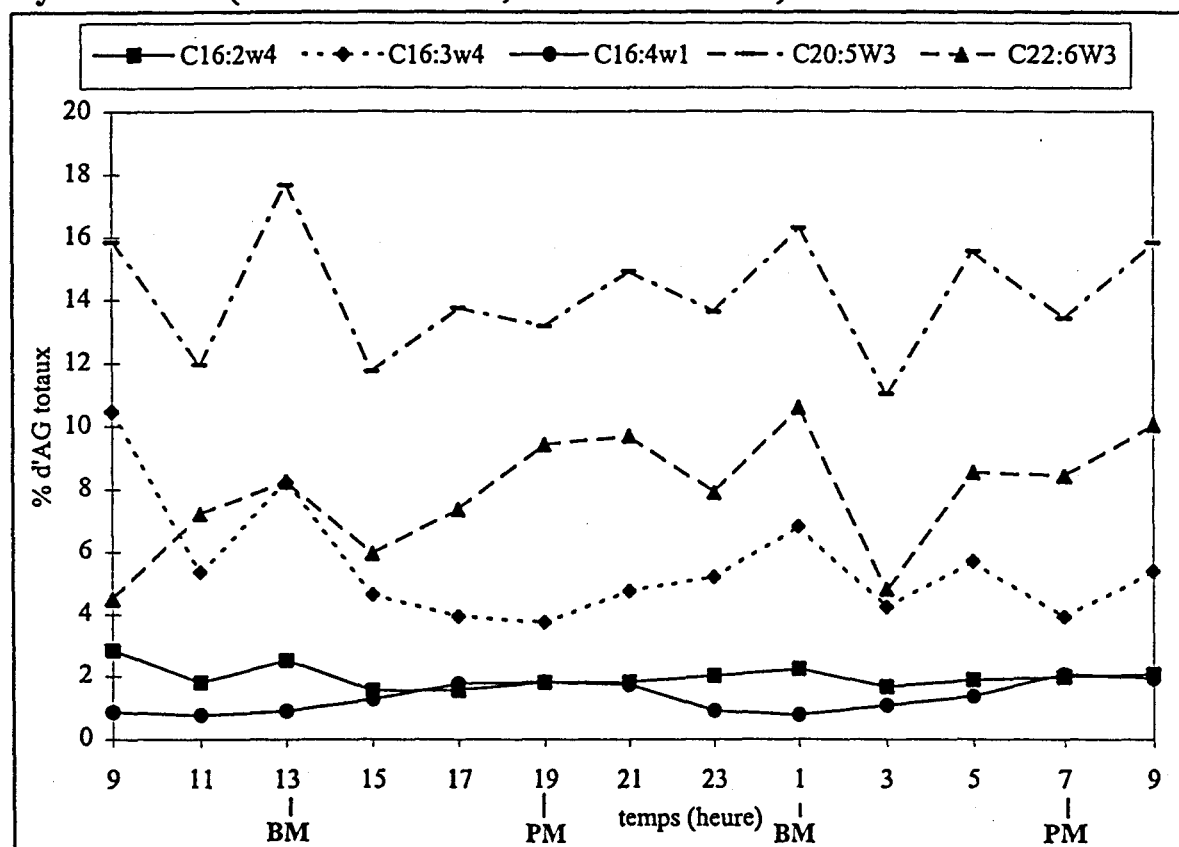


Figure 68 : Variations des proportions des différents acides gras individuels d'origine planctonique dans les eaux de fond lors du cycle de mai.

AG monoinsaturés ont des variations régulières avec des proportions qui sont maximales à BM et minimales à PM. Il est cependant difficile d'en donner une explication en raison des origines multiples de ces composés (phytoplanctonique, détritique, etc...). Les proportions des AG ramifiés d'origine bactérienne varient très peu (8 à 10 % des AG totaux). Ainsi, lors des épisodes de remise en suspension, si les concentrations en particules augmentent, ces particules ne sont pas enrichies en bactéries. Par contre, les particules d'origine terrigène sont remises en suspension dans les eaux de fond. Ceci se traduit par une augmentation des proportions en AG lourds (figure 62).

En mai, ce sont les acides gras polyinsaturés (figures 63 et 64) qui deviennent prédominants (30 à 45 % des AG totaux), et leurs proportions maximales sont observées à BM. Ceci confirme les hypothèses émises à partir des variations de la chlorophylle-a :

- d'une part, une augmentation du développement du phytoplancton.
- d'autre part, ce phytoplancton est issu des eaux douces car il est principalement présent à BM.

Pour les autres catégories d'acides gras, les mêmes observations qu'en avril peuvent être réalisées. En avril et mai, les AG bactériens représentent un faible pourcentage des AG totaux. Ceci indique que la biomasse bactérienne représente quantitativement une faible proportion de la MOP totale. Cependant, ceci ne veut pas dire que l'activité bactérienne est négligeable. Par ailleurs une des explications de cette faible biomasse est que celle-ci peut être limitée par la prédation des protozoaires et ciliées et de certaines espèces zooplanctoniques.

VI.2.a. Variations des AG individuels d'origine planctonique

Sur les figures 65, 66, 67 et 68 sont représentées les variations des proportions en surface et au fond des 4 principaux AG polyinsaturés caractéristiques des diatomées (Kates et Volcani, 1966 ; Pohl, 1982 ; Volkman *et al.*, 1989). Le C20:5 ω 3 en avril est majoritaire et représente entre 8 et 15 % des AG totaux. Les valeurs maximales sont observées à BM et à PM dans les eaux de surfaces et de fond. Les proportions de C16:2 ω 4, C16:3 ω 4 et C16:4 ω 1 ne sont maximales qu'à PM. Ceci pourrait indiquer la présence de deux populations de diatomées différentes, l'une minoritaire, d'origine estuarienne, qui est mise en évidence à PM, l'autre d'origine dulcicole, qui est mise en évidence à BM.

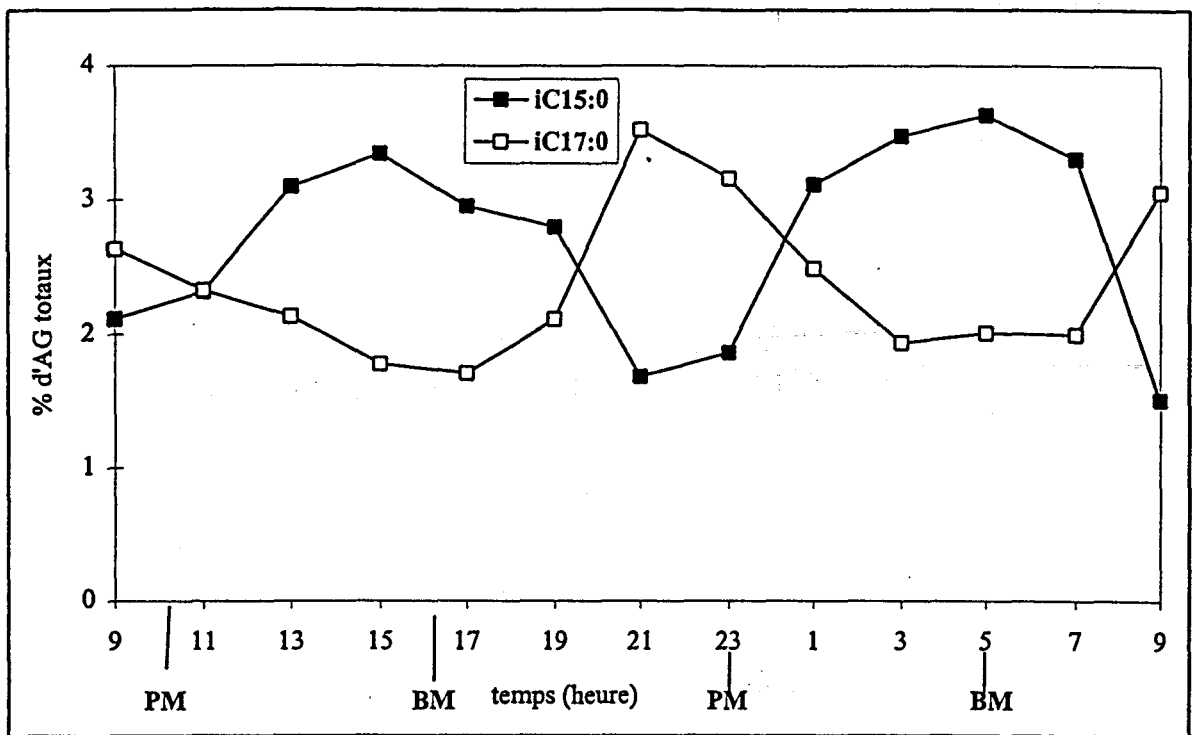


Figure 69 : Variations des proportions de l'iso C15:0 et l'iso C17:0 dans les eaux de surface lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

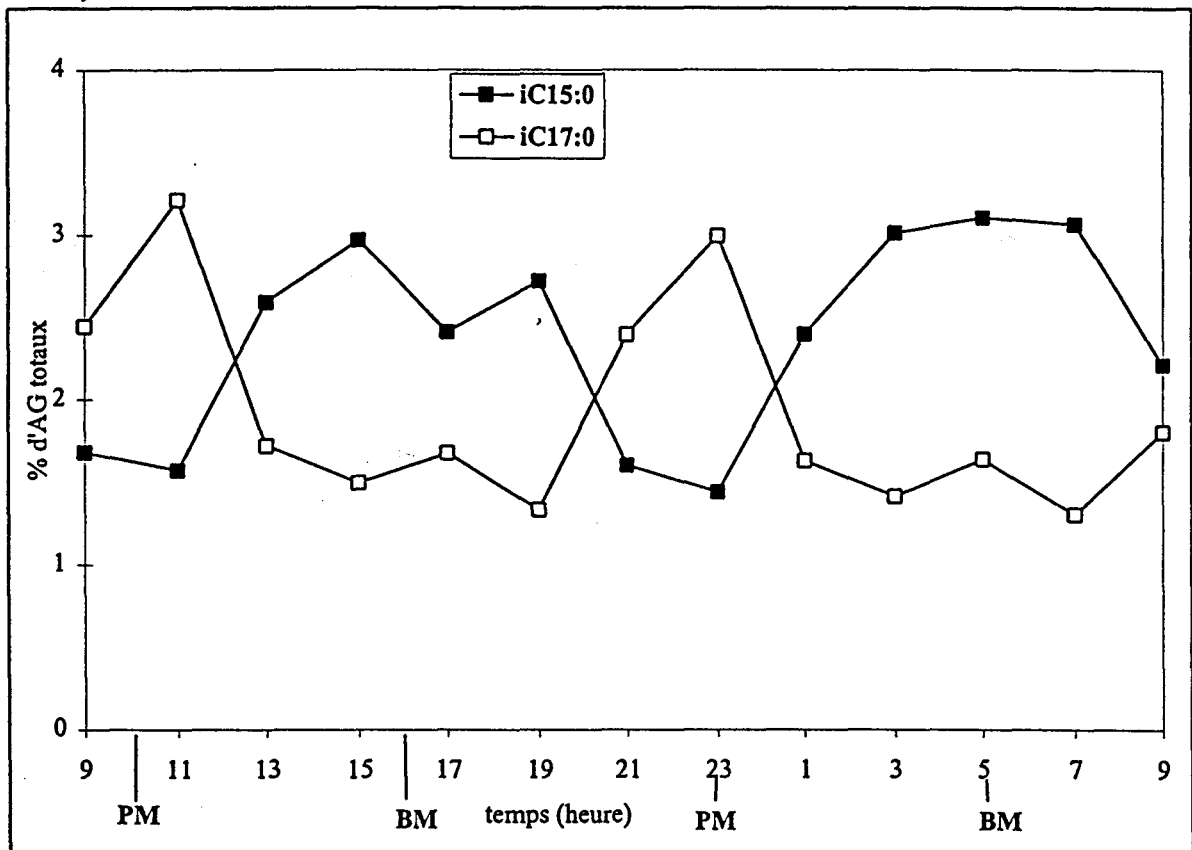


Figure 70 : Variations des proportions de l'iso C15:0 et l'iso C17:0 dans les eaux de fond lors du cycle d'avril.

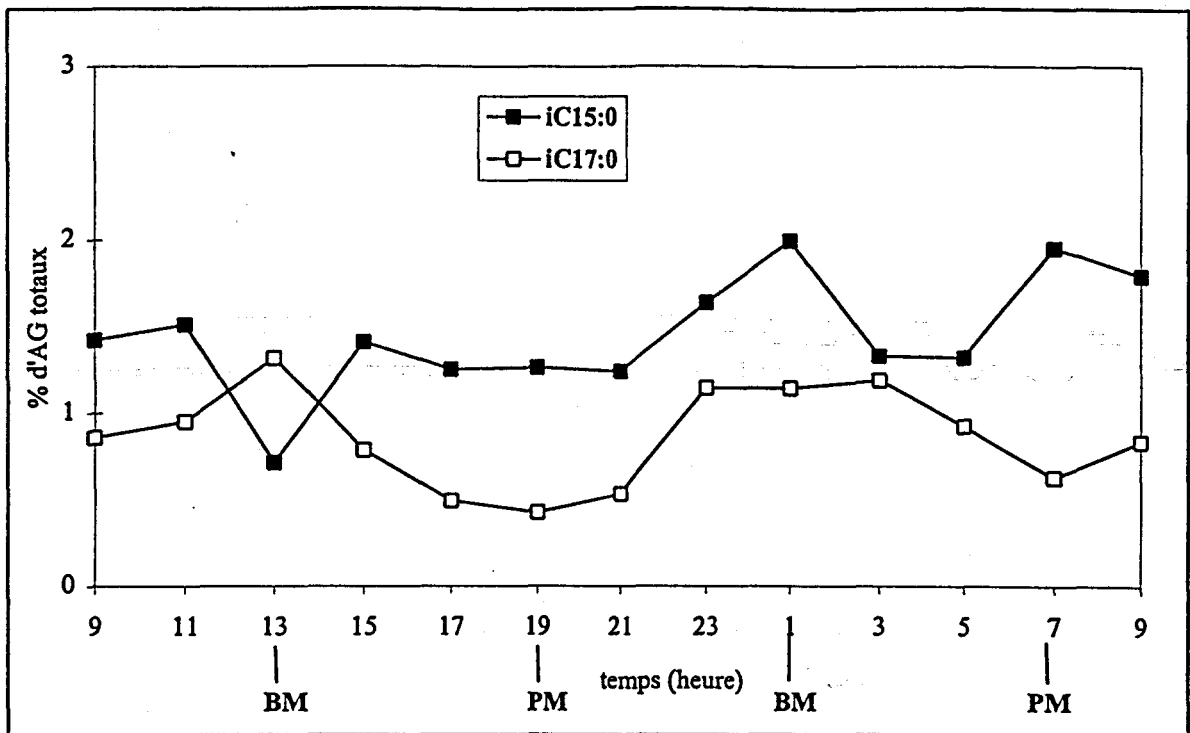


Figure 71 : Variations des proportions de l'iso C15:0 et l'iso C17:0 dans les eaux de surface lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

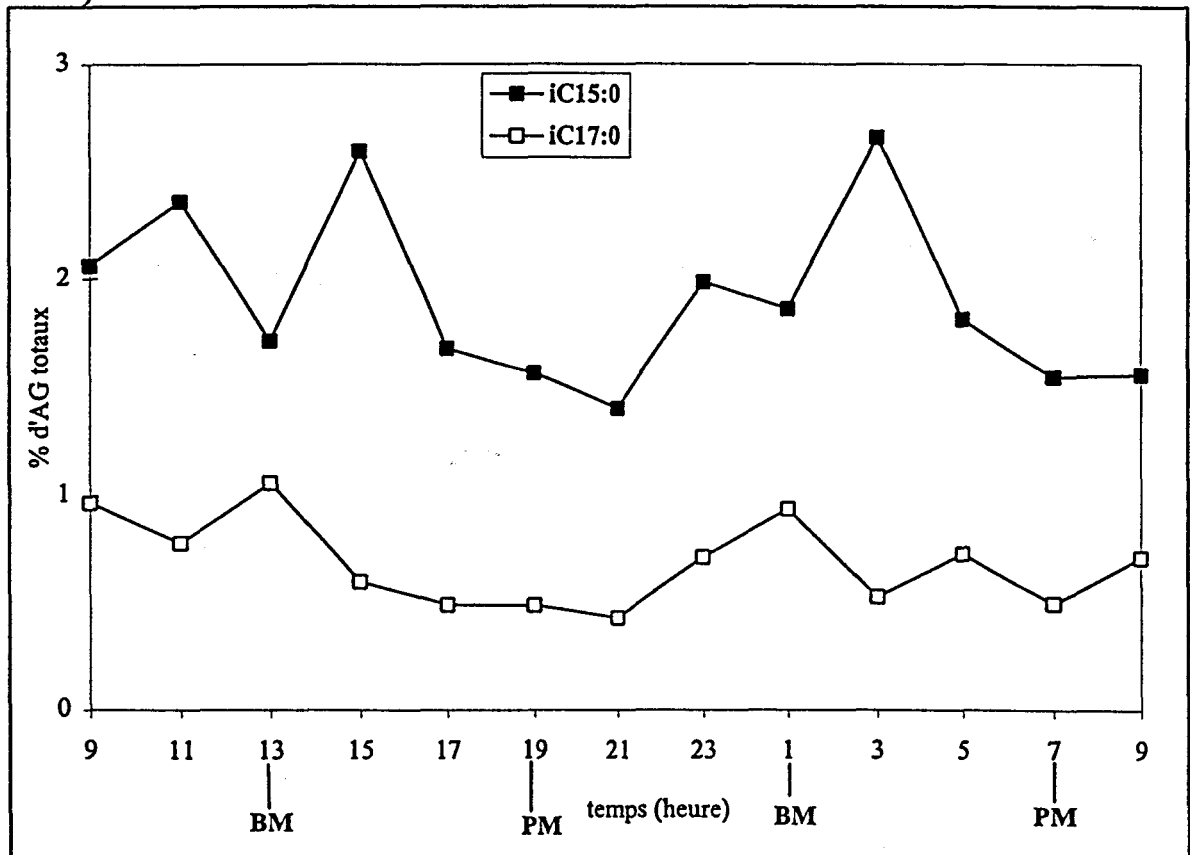


Figure 72 : Variations des proportions de l'iso C15:0 et l'iso C17:0 dans les eaux de fond lors du cycle de mai.

En mai (figures 67 et 68), contrairement à avril (figures 65 et 66), le C20:5 ω 3, le C16:3 ω 4 et à un moindre degré le C16:2 ω 4 ont des variations similaires. Leurs proportions sont maximales à BM. Ceci n'est pas observé pour le C16:4 ω 1 qui est cependant minoritaire. L'emprunte des diatomées est ici principalement présente à BM.

Même si les diatomées apparaissent comme la classe d'algue majoritaire dans l'estuaire de la Seine, il n'en demeure pas moins qu'il puisse y avoir une contribution plus faible faite par d'autres organismes comme les algues vertes (Scribe *et al.*, 1991) ou les cyanophycées. Ces algues synthétisent des AG caractéristiques comme le C18:2 ω 6 ou le C18:3 ω 3 (Volkman *et al.*, 1989). Lors de notre étude, ces composés ont effectivement été identifiés en faibles proportions (< 2 %).

Le C22:6 ω 3 est trouvé en forte proportion dans la MOP, il a des variations similaires au C20:5 ω 3 dans les eaux de surface et de fond. Son origine est diverse, il est trouvé en forte proportion dans les organismes vivants comme les copépodes et en faible proportion dans les diatomées.

VI.2.b. Variations des AG individuels d'origine bactérienne

La présence bactérienne au sein de la MOP peut être mise en évidence par des acides gras ramifiés en *iso* ou *antéiso* à 15 et 17 atomes de carbone (Perry *et al.*, 1979). Seules les variations des deux AG bactériens majoritaires lors des cycles de marée d'avril et de mai ont été représentées sur les figures 69, 70, 71 et 72. En avril, les variations de l'*iso* C15:0 et l'*iso* C17:0 dans les eaux de surface et de fond s'avèrent totalement opposées. L'*iso* C15:0 est maximum aux étales de BM et minimum à PM et inversement pour l'*iso* C17:0. Comme, les AG totaux ne présentent pas ou peu de variations au cours du cycle de marée, il apparaît difficile de conclure à l'existence de deux communautés bactériennes, l'une majoritaire à BM et l'autre à PM. Lors des cycles de marée de mai, ces deux acides gras ont toujours tendance à avoir des faibles variations (moins de 1 %) d'où des évolutions antagonistes et des maximums moins marqués qu'en avril.

Certaines bactéries synthétisent préférentiellement des AG à chaînes linéaires saturés ou monoinsaturés au détriment des AG ramifiés (3 %) (Volkman, 1986). Elles peuvent être caractérisées par la présence du C18:1 ω 7 et par un rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 supérieurs à 1 (Volkman *et al.*, 1981). Toutefois, ceci est à considérer avec précaution car le C18:1 ω 7 et le

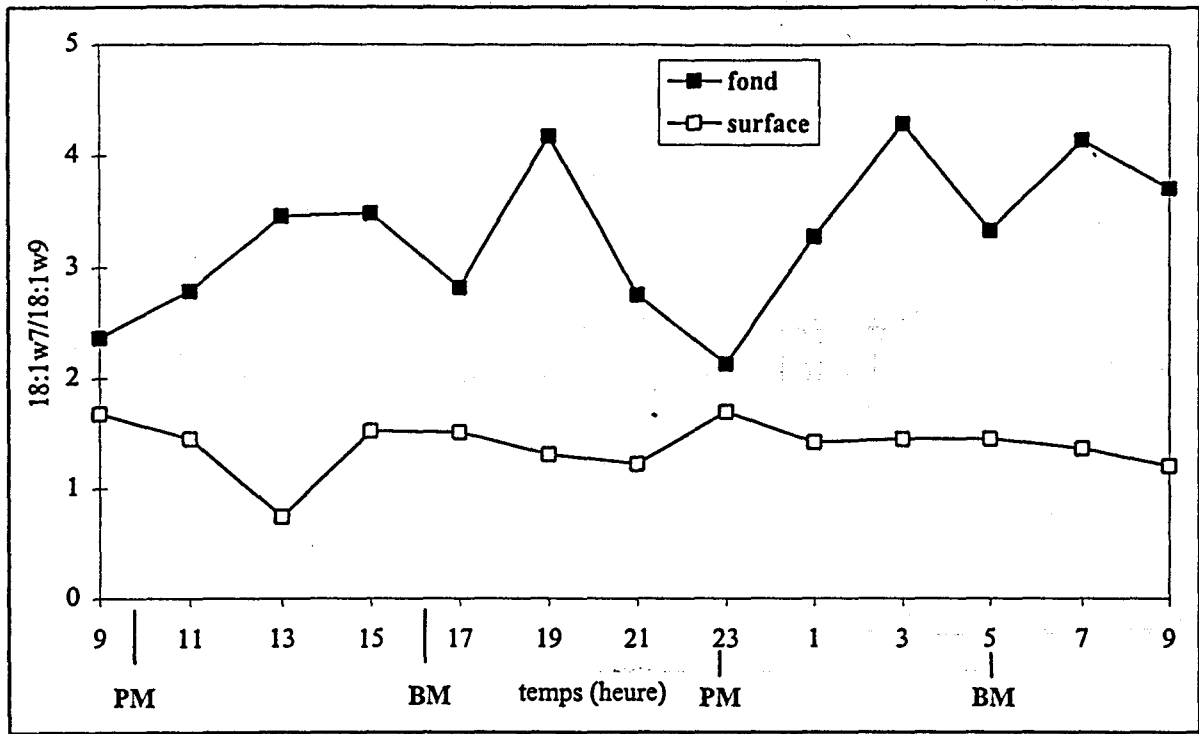


Figure 73 : Variations du rapport C18:1w7/C18:1w9 dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

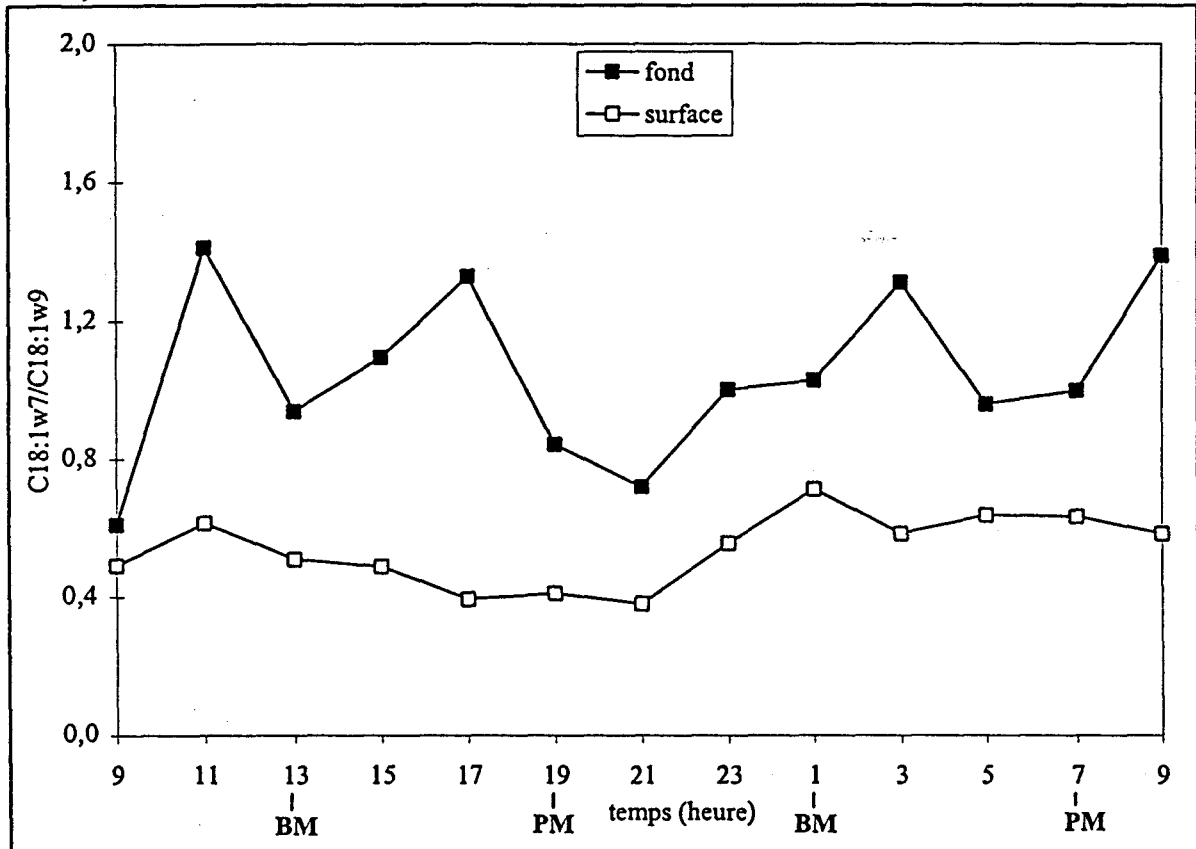


Figure 74 : Variations du rapport C18:1w7/C18:1w9 dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

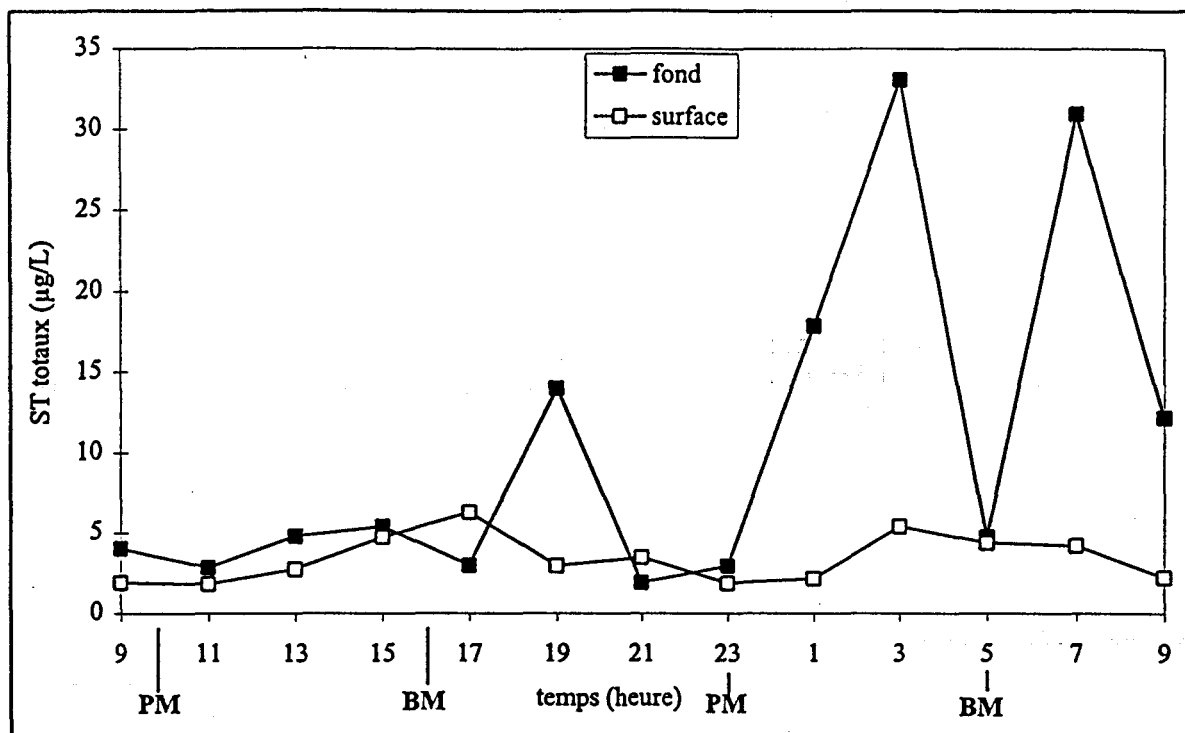


Figure 75 : Variations de la concentration en ST totaux dans les eaux de surface et de fond lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

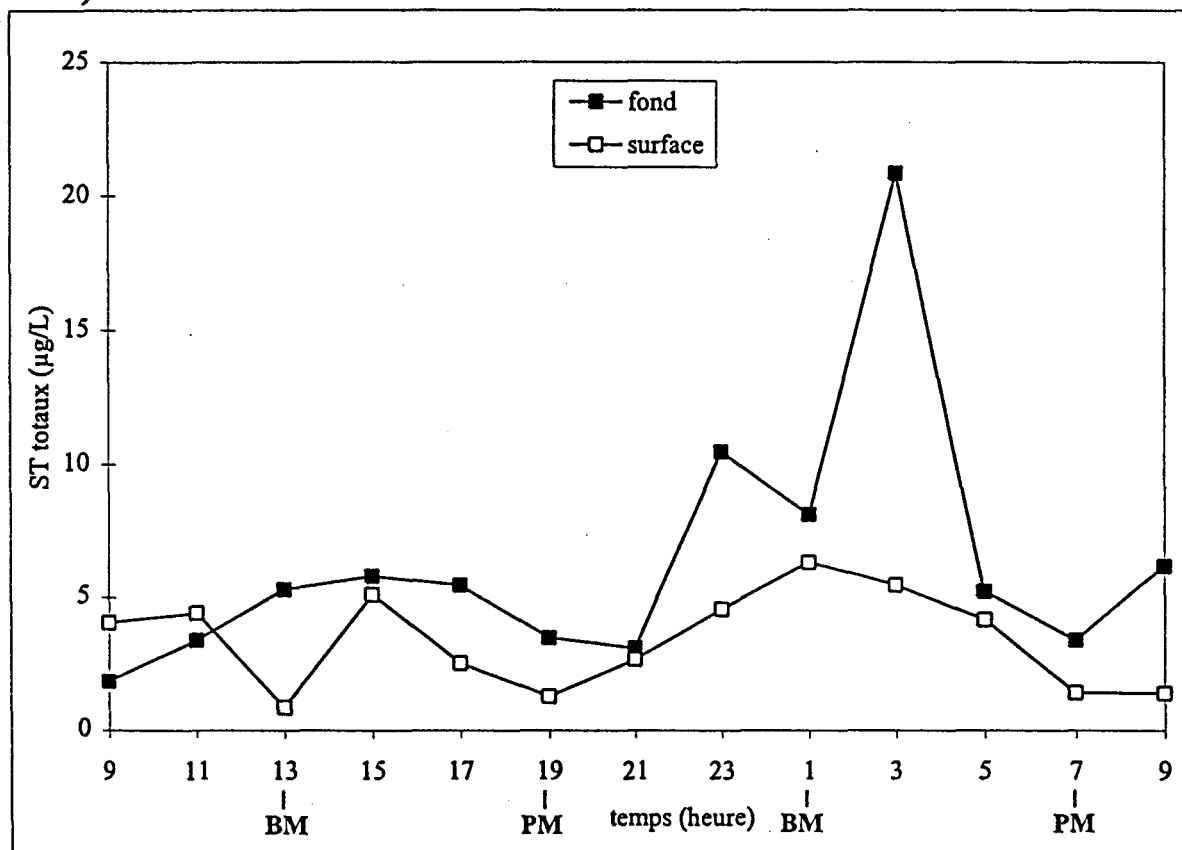


Figure 76 : Variations de la concentration en ST totaux dans les eaux de surface et de fond lors du cycle de mai.

C18:1 ω 9 peuvent aussi être synthétisés en proportions variables par les algues phytoplanctoniques. Les variations du rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 en avril et mai sont rapportées sur les figures 73 et 74. Pour chaque mois, les valeurs sont supérieures au fond à celles de surface. Par ailleurs, en avril elles sont à une exception près supérieures à 1, ce qui n'est pas le cas en mai. Ceci pourrait être dû à une plus forte "empreinte" bactérienne en avril. Cette empreinte est plus marquée dans les eaux de fond. Elle tend à s'affirmer par l'augmentation du rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 quand la teneur en MES est élevée, notamment à t=19 h, 3 h et 7 h. Peut-être s'agit-il ici de la mise en évidence de bactéries associées aux particules.

VII. Variations des ST totaux.

Les variations et les concentrations des ST totaux sont assez similaires pour les cycles d'avril et de mai, elles varient entre 2 et 33 μ g/L dans les eaux de fond et entre 2 et 5 μ g/L dans les eaux de surface (figures 75 et 76). Les eaux de fond sont plus riches en stérols que celles de surface. Les concentrations y augmentent notamment lors du passage du bouchon vaseux de jusant et du coup de flot. Cependant, dans ce cas aussi, pour deux cycles de marée consécutifs (avril ou mai) les concentrations des ST lors des remises en suspension dans les eaux de fond sont très différentes.

Les équations des droites issues des relations linéaires entre les ST totaux (conversion en équivalent carbone par un facteur de 0,85) et le COP figurent dans le tableau 14.

Corrélation ST/COP	a	b	R	n	ρ
Surface en avril	0,0016	0,70	0,73	13	<0,01
Fond en avril	0,0003	4,80	0,91	13	<0,001
Surface en mai	0,0009	1,43	0,28	13	>0,1
Fond en mai	0,0006	2,70	0,58	13	<0,05

Tableau 14 : corrélation linéaire ($Y=aX + b$) entre les concentrations en ST totaux de surface et de fond (Y) exprimées en équivalent carbone (facteur de multiplication de 0,85) et les concentrations en COP (X) en avril et en mai ; n est le nombre de prélèvements, R le coefficient de corrélation et ρ le niveau de signification.

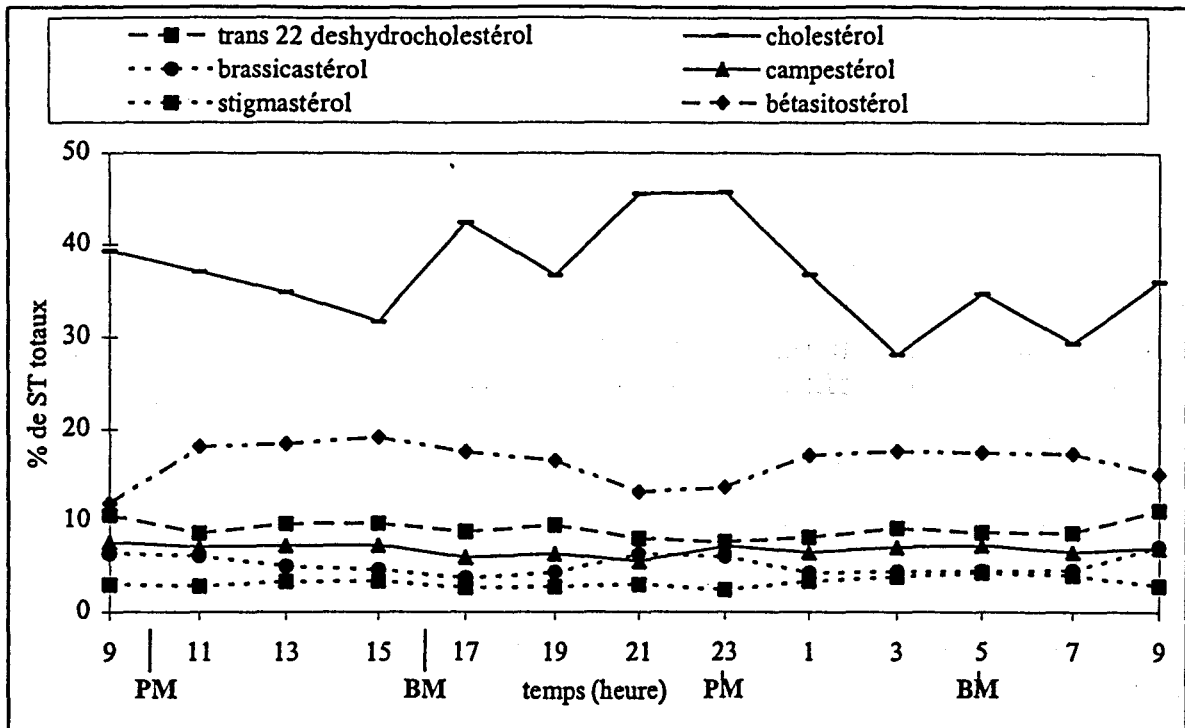


Figure 77 : Variations des proportions des différents sténols dans les eaux de surface lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

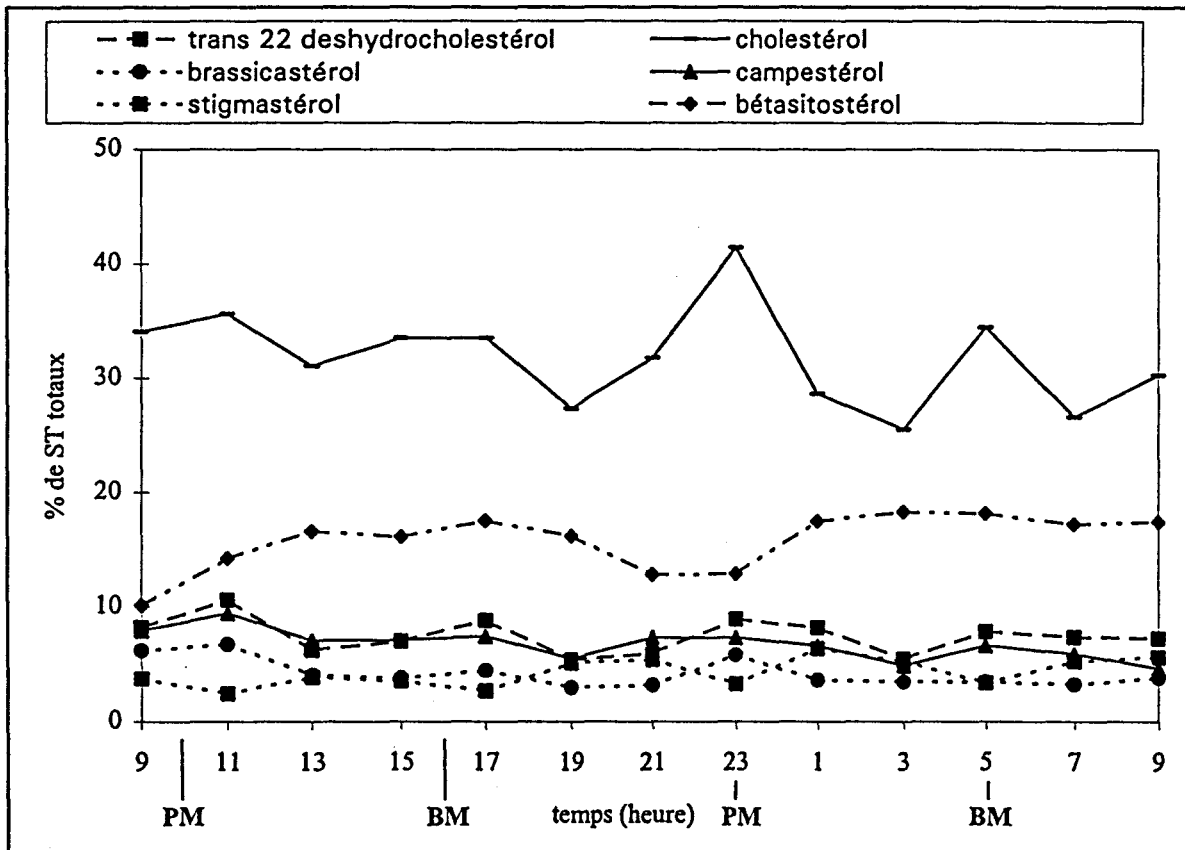


Figure 78 : Variations des proportions des différents sténols dans les eaux de fond lors du cycle d'avril.

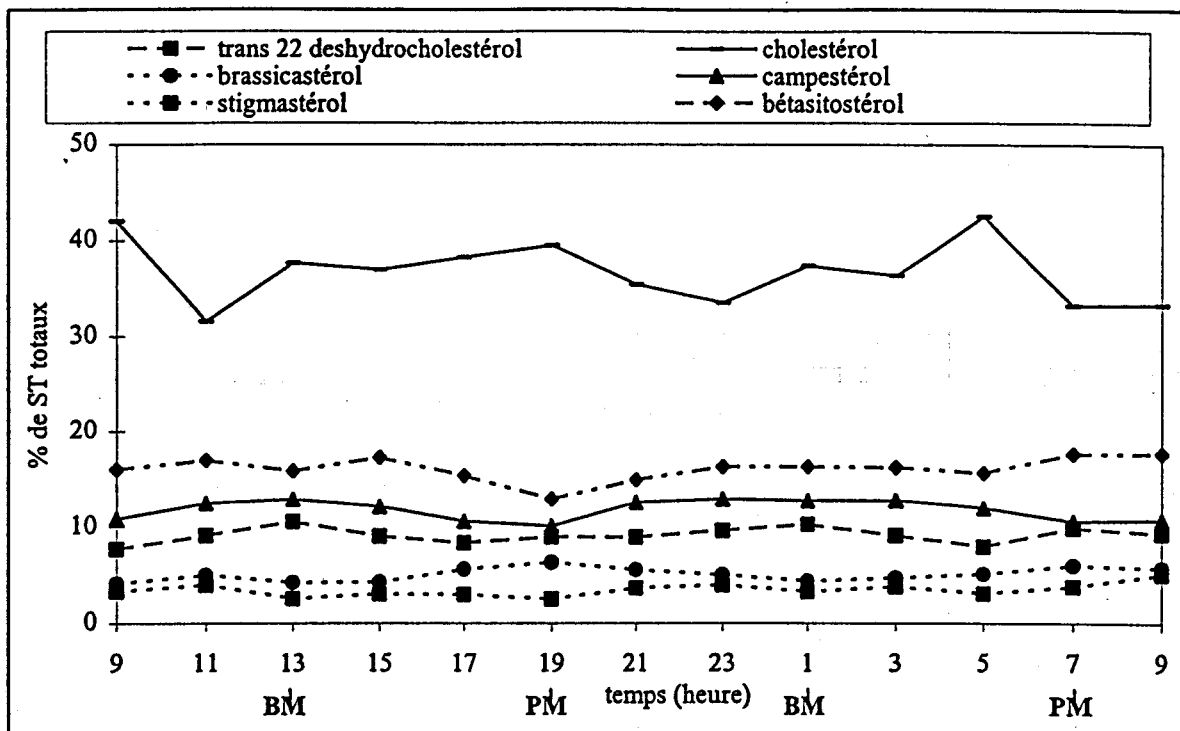


Figure 79 : Variations des proportions des différents sténols dans les eaux de surface lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

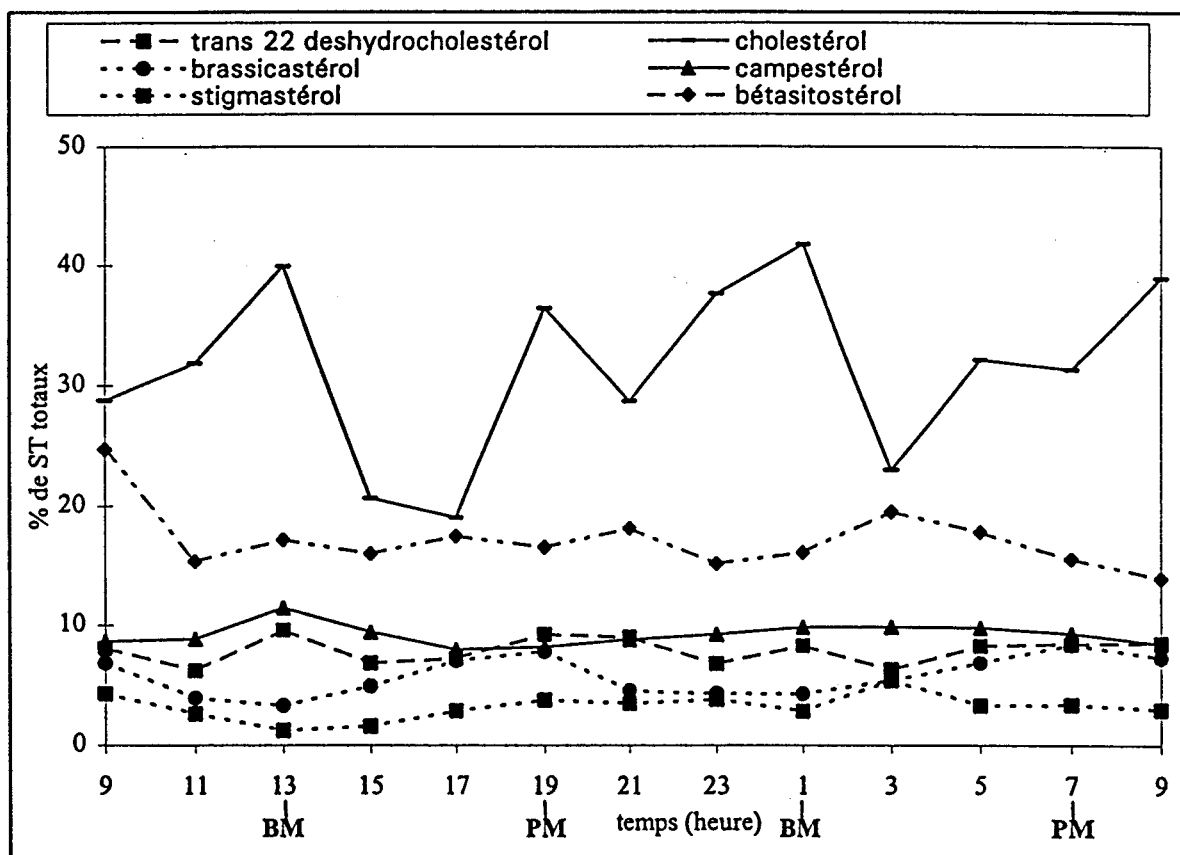


Figure 80 : Variations des proportions des différents sténols dans les eaux de fond lors du cycle de mai.

Les ST totaux de surface et de fond sont corrélés (significatifs) au COP dans les eaux de fond et ils représentent 0,03 à 0,16 % du COP (tableau 14). Par contre, en mai, une corrélation significative n'a été observée que dans les eaux de fond. Les meilleures corrélations dans les eaux de fond peuvent être expliquées par l'influence maximale des remises en suspension de jusant et de flot qui entraînent une homogénéisation de la fraction particulaire.

Le cholestérol est le stérol majoritaire et représente entre 20 et 45 % des ST totaux (figures 77, 78, 79 et 80). Les autres composés sont par ordre d'importance, le β -sitostérol, et, à des proportions généralement inférieures à 10 %, le campestérol, le trans 22-deshydrocholestérol, le brassicastérol et le stigmastérol. Des proportions maximales en cholestérol sont observées à BM et à PM notamment dans les eaux de fond (figure 78 et 80). En d'autres termes, le cholestérol est préférentiellement présent dans les particules qui sédimentent lentement. Néanmoins, on ne peut assigner une nature précise à ces particules puisque le cholestérol a de multiples origines (espèces phytoplanctoniques, zooplanctoniques, particules des rejets urbains, etc...). Le β -sitostérol en avril et aussi en mai, mais uniquement dans les eaux de surface, présente des variations régulières avec des proportions maximales à BM et minimales à PM. Ceci indique qu'il est apporté par les eaux douces. Il peut avoir pour origine les végétaux supérieurs mais aussi certaines chlorophycées ou cyanophycées (Saliot, 1994).

Le β -sitostérol peut provenir des plantes supérieures, des chlorophycées ou des cyanophycées. Il existe une corrélation significative entre le β -sitostérol et les AG Lourds (tableau 15) dans les eaux de fond pour les deux cycles. Ceci indique que les particules présentes près du fond ont une origine majoritairement terrigène et détritique. Par contre dans les eaux de surface, la corrélation est moins bonne en avril et n'est pas significative en mai. Sans doute faut-il y voir une influence des apports phytoplanctoniques.

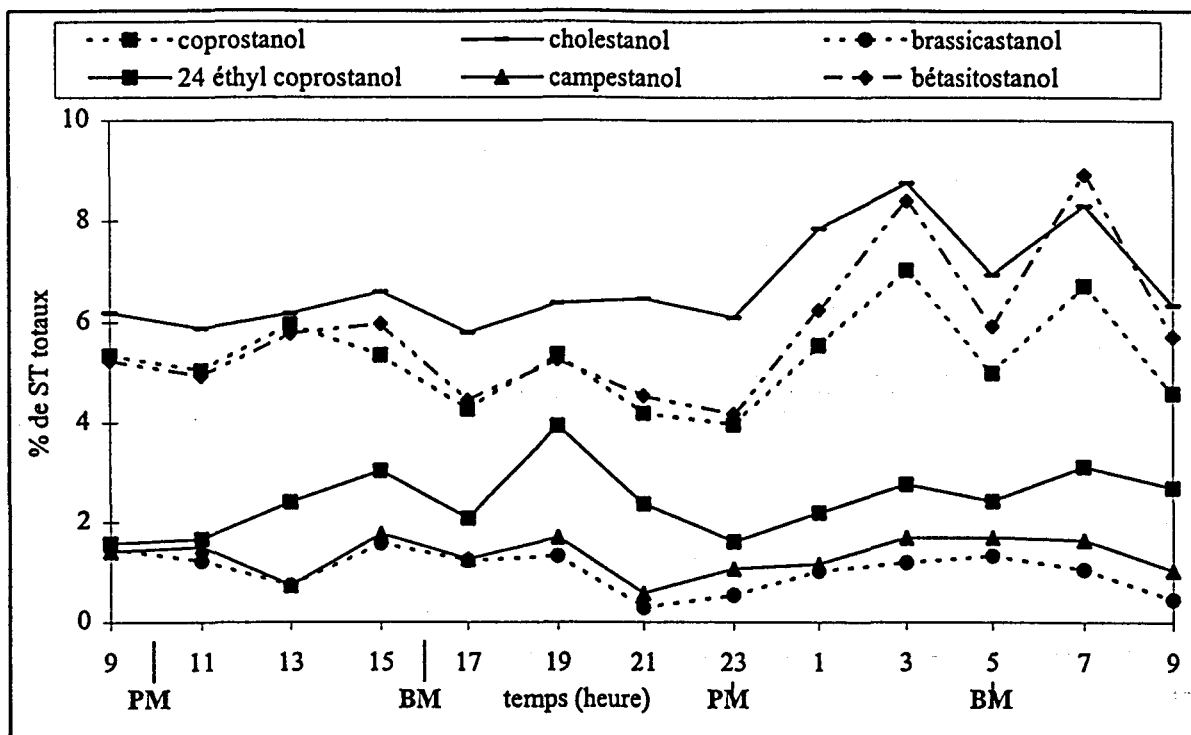


Figure 81 : Variations des proportions des différents stanols dans les eaux de surface lors du cycle d'avril (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

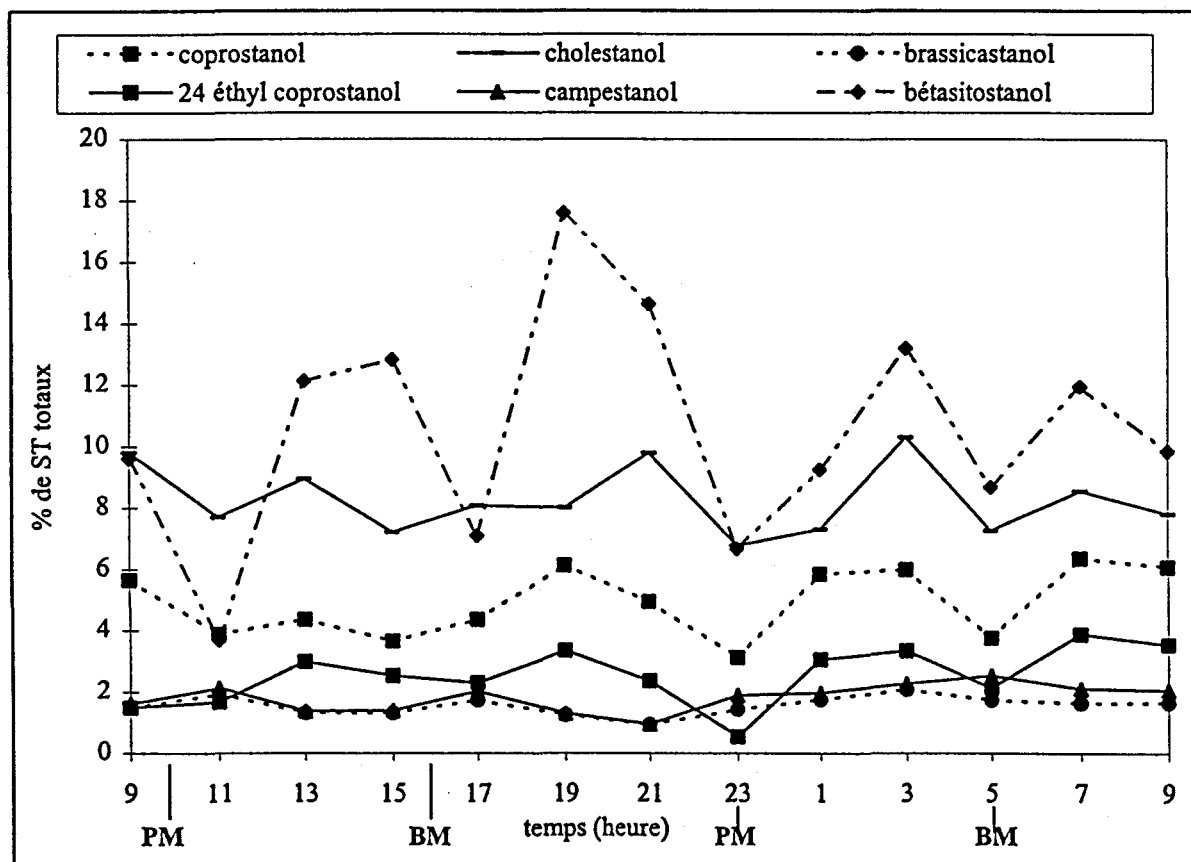


Figure 82 : Variations des proportions des différents stanols dans les eaux de fond lors du cycle d'avril.

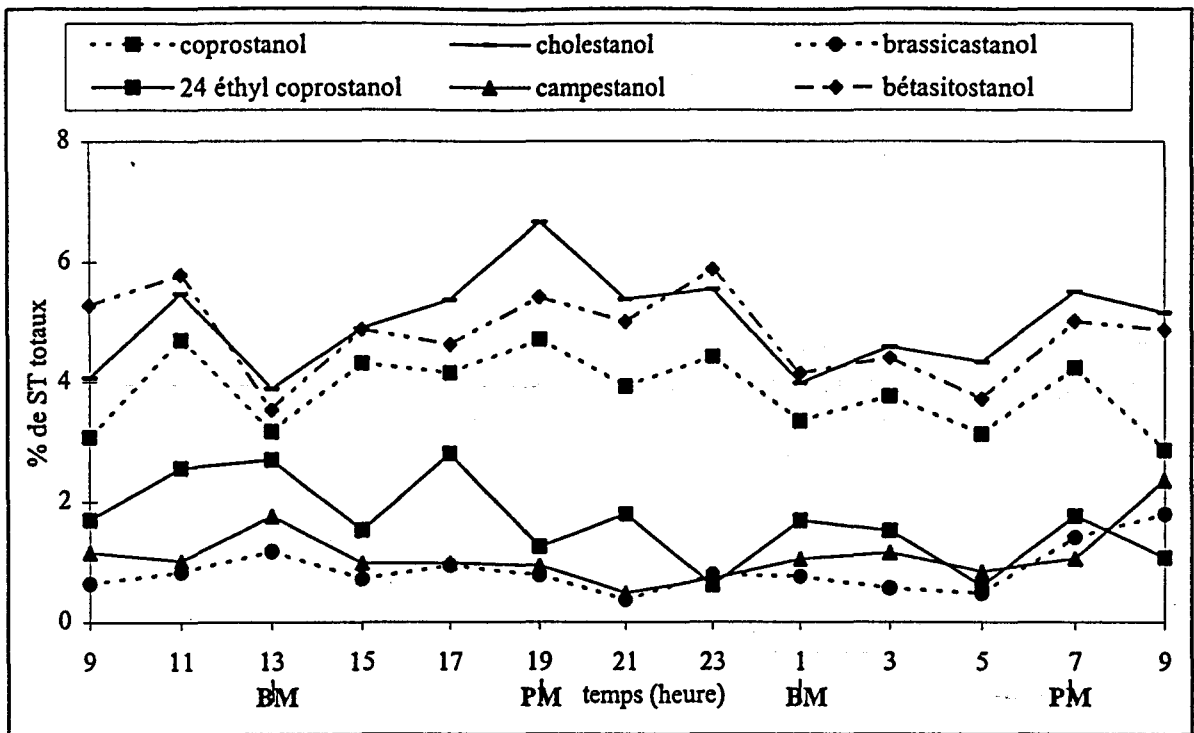


Figure 83 : Variations des proportions des différents stanols dans les eaux de surface lors du cycle de mai (BM : Basse mer ; PM : Pleine mer).

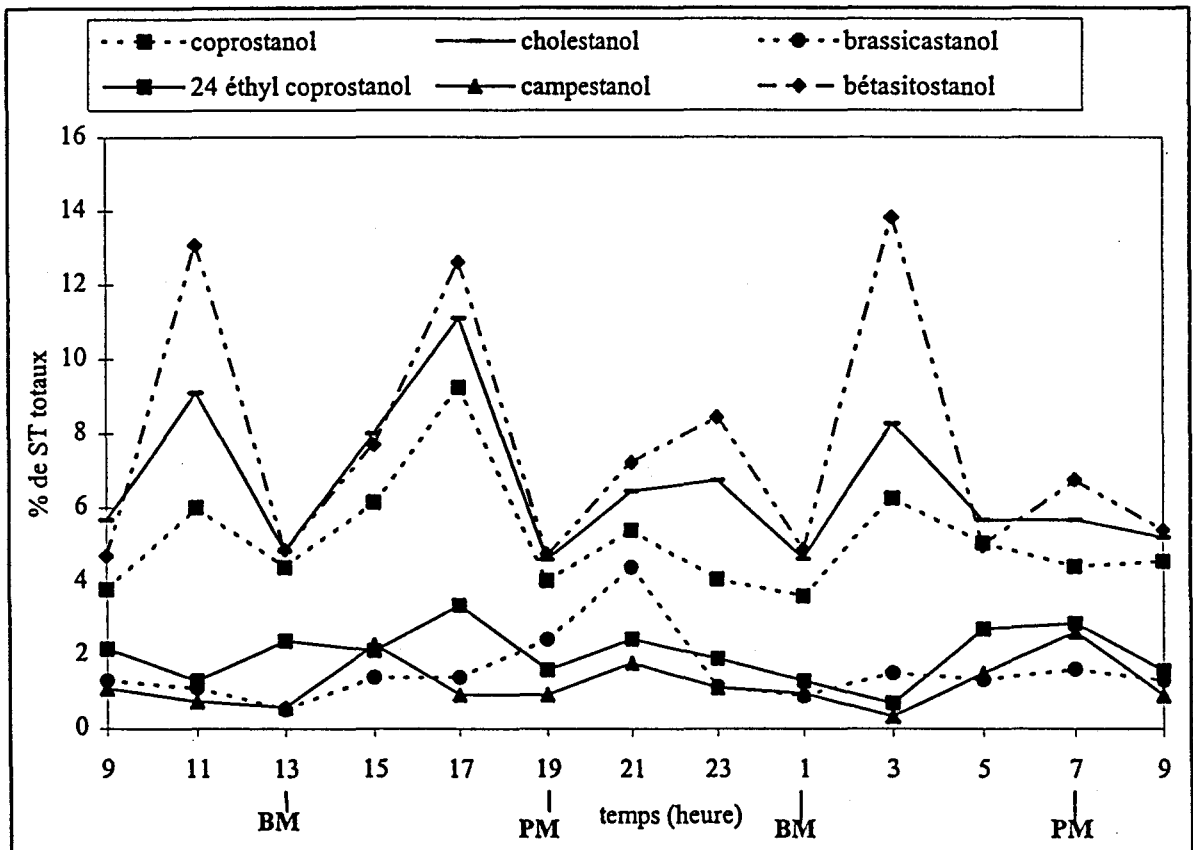


Figure 84 : Variations des proportions des différents stanols dans les eaux de fond lors du cycle de mai.

Corrélation β -sitostérol/AG Lourds	a	b	R	n	ρ
Surface en avril	0,3801	0,26	0,59	13	<0,05
Fond en avril	0,2425	0,21	0,85	13	<0,001
Surface en mai	0,1290	0,42	0,14	13	>0,1
Fond en mai	0,1671	0,50	0,63	13	<0,05

Tableau 15 : corrélation linéaire ($Y=aX + b$) entre les concentrations en β -sitostérol de surface et de fond (Y) exprimées en $\mu\text{g/L}$ et les concentrations des AG lourds exprimées en $\mu\text{g/L}$ lors des cycles de marée d'avril et de mai ; n est le nombre de prélèvements, R le coefficient de corrélation et ρ le niveau de signification.

Le trans 22 deshydrocholestérol et le campestérol et des maximums en chl a indiquent la présence de diatomées en plus forte concentration au niveau des basses mers pour les cycles d'avril et de mai dans les eaux de surface. Le trans 22 deshydrocholestérol et le brassicastérol sont typiques des diatomées. Le second peut aussi être synthétisé par certaines cyanophycées. Le campestérol et le stigmastérol peuvent être synthétisés par les chlorophycées mais sont aussi synthétisés en faibles proportions par les végétaux supérieurs. Les proportions de ces différents stérols varient relativement peu. Tout au plus peut-on constater en mai, notamment au fond, une légère augmentation de proportions de trans 22 deshydrocholestérol à BM qui traduit un apport de diatomées. De même de faibles augmentations de trans 22 deshydrocholestérol, de brassicastérol à PM sont probablement dues à la présence de diatomées. Une présence de cyanophycées n'est en effet pas confirmée par la composition en AG.

Les stanols (figures 81, 82, 83 et 84) sont issus de la réduction des sténols par les bactéries. Ils sont généralement en faibles proportions dans les organismes vivants, aussi, sont ils caractéristiques de la matière organique détritique. Six stanols, ont été identifiés que ce soit en avril ou en mai. Le cholestérol est prédominant dans les eaux de surface. Au fond, c'est le β -sitostérol qui a les proportions les plus importantes, notamment lors des épisodes de remises en suspension. Ceci va dans le sens d'une plus grande proportion de particules détritiques issues des végétaux supérieurs près du fond. Par ailleurs, on peut remarquer l'omniprésence de deux composés d'origine fécale, le coprostanol et l'éthylcoprostanol. Ceux-ci proviennent très probablement des rejets d'effluents urbains effectués en Seine. Enfin, le campestanol et surtout le brassicastanol mettent en évidence la matière organique algale détritique. On peut cependant noter l'absence de trans 22 deshydrocholestérol. Le β -sitostanol d'origine

détritique est corrélé (significative) avec les AG lourds dans les eaux de surface et de fond pour les cycles sauf en mai dans les eaux de surface (tableau 16). Ces résultats sont en accords avec les corrélations obtenues entre le β -sitostérol et les AG lourds.

Corrélation β -sitostanol/AG Lourds	a	b	R	n	ρ
Surface en avril	0,2157	0,03	0,83	13	<0,001
Fond en avril	0,1792	0,08	0,86	13	<0,001
Surface en mai	0,0375	0,12	0,14	13	>0,1
Fond en mai	0,1518	0,03	0,75	13	<0.01

Tableau 16 : corrélation linéaire ($Y=aX + b$) entre les concentrations en β -sitostanol de surface et de fond (Y) exprimées en $\mu\text{g/L}$ et les concentrations des AG lourds exprimées en $\mu\text{g/L}$ lors des cycles de marée d'avril et de mai ; n est le nombre de prélèvements, R le coefficient de corrélation et ρ le niveau de signification.

VIII Conclusion-résumé

Cette étude en point fixe a permis de déterminer les différentes sources récentes de la MOP et aussi de préciser par rapport aux études antérieures (Bodineau, 1996) certains aspects de son transport lors du cycle de marée.

Les différentes étapes de remises en suspension et de sédimentation des particules ont été observées. Le COP représente une faible teneur des MES (2 %) et ceci confirme les études antérieures (Bodineau, 1996). Cependant, des écarts à la corrélation COP-MES sont observés dans les eaux de fond lors des remises en suspension, un enrichissement du COP des particules est en effet observé.

L'analyse de la chlorophylle-a et des phéopigments a révélé un apport en phytoplancton d'eau douce. Cet apport, via les eaux de surface, est plus important en mai qu'en avril. Cependant, le COP détritique algal est déjà présent en quantités relativement importantes en avril notamment dans les eaux de fond. Par ailleurs, la sous-saturation des eaux à BM en mai tend à indiquer que les cellules algales étaient plus actives du point de vu de la photosynthèse.

Le développement du phytoplancton entre mai et avril est aussi mis en évidence par l'augmentation de la proportion en AG insaturés par rapport aux AG totaux. Cette population phytoplanctonique est majoritairement formée de diatomées dulcicoles. Ceci a été mis en évidence par la présence du C20:5 ω 3, d'AG polyinsaturés en C16 et de certains stérols comme le brassicastérol et le trans 22 deshydrocholestérol. Il est possible aussi qu'une partie du cholestérol soit d'origine phytoplanctonique. Une présence minoritaire de chlorophycées et peut être de cyanophycées, est suggérée par les faibles proportions de C18:3 ω 3, de C18:3 ω 6 et de campestérol. Ces algues peuvent aussi être responsables d'une partie du β -sitostérol présent dans les eaux.

La fraction bactérienne est quantitativement minoritaire. Globalement les AG ramifiés ne représentent que 8 à 10 % des AG totaux. Des variations individuelles peuvent être observées mais elles sont trop limitées pour pouvoir en tirer une quelconque conclusion.

La fraction issue des végétaux supérieurs est caractérisée par les AG lourds (> C24:0) et par le β -sitostérol. Cette fraction est plus importante dans les eaux de fond et une meilleure corrélation est obtenue entre les AG lourds et le β -sitostérol. Ceci est aussi le cas d'une manière générale pour la MOP détritique quelle que soit son origine. Ceci est mis en évidence par les proportions des différents stanols (cholestanol, β -sitostanol, campestanol, brassicastanol, stigmastanol) qui dans les eaux de fond augmentent lors des remises en suspension.

Les régimes alimentaires du copépode *Eurytemora affinis* et de la crevette blanche *Palaemon longirostris* en zone oligohaline

I. Introduction

Si les acides gras et les stérols sont utilisés pour étudier les origines de la matière organique particulaire, ils peuvent aussi l'être pour l'étude des relations trophiques entre les différentes espèces vivant dans un estuaire. Ces relations sont essentiellement de type "proie-prédateur". Chez les organismes animaux, les acides gras et les stérols ont une origine essentiellement alimentaire. En effet, les animaux ont des capacités très limitées pour synthétiser de *novo* ces composés. Ils ont aussi relativement peu de possibilités de les transformer ultérieurement une fois ingérés.

Dans la zone oligohaline de l'estuaire de la Seine, deux espèces sont prédominantes dans leurs catégories. Le copépode *Eurytemora affinis* fait partie du mésozooplancton, c'est à dire du zooplancton de taille moyenne comprise entre 0,2 et 20 mm. La crevette *Palaemon longirostris* fait partie du suprabenthos qui regroupe les organismes vivant dans la couche d'eau proche du fond. L'étude de leur régime alimentaire a été entreprise pour mieux connaître les premiers maillons de la chaîne trophique (Thoumelin *et al.*, 1998). Outre un aspect de connaissance fondamentale, ceci peut contribuer à mieux comprendre le transfert de certains polluants tels que les PCB (polychlorobiphényles) ou les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) dans la chaîne alimentaire.

Les estomacs de *Palaemon longirostris* ont été spécialement analysés. Ceci était impossible pour *Eurytemora affinis*. Aussi, dans ce cas les organismes entiers ont-ils été extraits. Dans ce chapitre seront présentées les variations de composition des copépodes *Eurytemora affinis* au cours de cycles de marée et lors d'incubations. La composition en acides gras et en stérols de leurs pelotes fécales a aussi été étudiée. Le régime alimentaire d'*Eurytemora affinis* sera ainsi discuté. Pour *Palaemon longirostris* une étude assez similaire a été réalisée. Différents aspects ont été abordés tels que les variations saisonnières de la

Temps (h)	9	11	13	15	17	23	5	moyenne	Ecart type
AG saturés (%)	31,9	31,5	24,2	26,5	25,3	30,6	26,8	28,1	3,2
AG monoinsaturés (%)	12,6	14,0	11,4	13,1	10,6	12,1	10,9	12,1	1,2
AG polyinsaturés (%)	51,5	50,3	61,6	57,4	61,4	54,9	59,2	56,6	4,5
AG ramifiés (%)	4,0	4,2	2,7	2,9	2,6	2,5	3,1	3,1	0,7
AG totaux/COP (mg/g)	42,4	44,2	74,5	64,7	168,9	63,0	62,6	74,3	43,3
ST totaux/COP (mg/g)	3,0	3,3	-	9,5	5,4	3,3	5,2	4,9	2,4

Tableau 17 : compositions en AG des copépodes en fonction du temps lors du cycle de marée d'avril 1997 (1^{ère} PM à 10 h, 2^{ème} PM à 23 h ; 1^{ère} BM à 16 h, 2^{ème} BM à 5 h).

Temps (h)	9	11	13	19	23	1	3	7	moyenne	Ecart type
AG saturés (%)	26,9	31,2	31,4	33,9	24,9	26,5	28,9	25,0	28,6	3,3
AG monoinsaturés (%)	12,8	15,4	16,4	13,3	12,9	10,9	12,6	13,2	13,4	1,7
AG polyinsaturés (%)	58,0	50,9	49,3	51,0	60,1	60,5	56,5	59,7	55,7	4,6
AG ramifiés (%)	2,3	2,4	2,9	1,8	2,2	2,0	2,0	2,1	2,2	0,3
AG totaux/COP (mg/g)	113,5	55,2	87,4	73,6	145,8	96,3	107,9	62,3	97,7	29,8
ST totaux/COP (mg/g)	7,4	3,7	5,6	5,5	2,8	3,3	4,9	-	4,7	2,4

Tableau 18 : compositions en AG des copépodes en fonction du temps lors du cycle de marée de mai 1997 (1^{ère} PM à 19 h, 2^{ème} PM à 7 h ; 1^{ère} BM à 13 h, 2^{ème} BM à 1 h).

composition des estomacs, les comparaisons de compositions avec la MOP et les copépodes, les influences des conditions diurnes et nocturnes et les incubations. Tout ceci permettra de mieux connaître le régime alimentaire de *Palaemon longirostris*. Nous pourrons ainsi préciser quelques maillons du réseau trophique dans la zone oligohaline de l'estuaire de Seine.

II. Etude d'*Eurytemora affinis*

II.1. Variations de la composition d'*Eurytemora affinis* au cours de cycles de marée

Le copépode *Eurytemora affinis* présente une période de densité maximale au printemps au même moment que les efflorescences phytoplanctoniques. A ce titre, il est considéré comme un facteur de régulation de la biomasse algale (Schnack *et al.*, 1985). Au cours de cette période, les phases de fortes densités sont observées en avril et mai. Par contre, les faibles abondances sont constatées en début et en fin de printemps (Mouny, 1998). L'augmentation de la température de l'eau au début du mois de mars est une des causes de l'augmentation de l'abondance de ce copépode (Mouny, 1998). Nous nous sommes intéressés d'une part à la variation de composition en acides gras et en stérols des copépodes au cours de deux cycles de marée successifs en avril et en mai 1997, et d'autre part au régime alimentaire d'*Eurytemora affinis* (vers la BM) en estuaire de Seine. En effet, la production primaire y est souvent considérée comme limitée compte tenu des fortes turbidités. Aussi est-il important de mettre en évidence si des sources de MOP autres que phytoplanctoniques, telles que la fraction détritique ou les bactéries, contribuent au régime alimentaire d'*Eurytemora affinis*.

II.1.a. Variations des catégories d'acides gras des copépodes

En avril et mai 1997, qui ont été des périodes de fortes abondances du copépode *Eurytemora affinis* à BM, nous avons étudié les compositions en acides gras et en stérols de la fraction zooplanctonique (> 200 µm) lors de deux cycles de marée. Les proportions des différentes catégories d'acides gras (tableaux 17 et 18) de cette fraction majoritairement composée de copépodes adultes apparaissent relativement constantes. Les acides gras

Espèce Chimique Acides Gras (%)	MOP (15h) surface Avril	MOP (15h) fond Avril	Zoo (15h) Avril	MOP (11h) surface Mai	MOP (11h) fond Mai	Zoo (11 h) Mai
.C/N	8,7	7,4	6,3	7,7	7,9	4,8
AG saturés	31,2	32,0	26,5	31,0	31,7	31,2
AG monoinsaturés	24,7	21,0	13,1	20,2	21,5	15,4
AG polyinsaturés	29,6	28,3	57,4	40,2	33,7	50,9
AG ramifiés	10,2	9,4	2,9	7,2	8,1	2,4
AG lourds	4,3	9,4	0,0	1,4	5,0	0,0
C14:0	7,2	6,6	6,5	8,8	6,8	10,2
<i>i</i> C15:0	3,3	3,0	0,9	1,5	2,4	0,4
<i>a</i> C15:0	1,3	1,6	0,2	0,6	1,3	0,1
C15:0	1,4	1,1	1,2	0,9	1,1	0,8
<i>i</i> C16:0	0,9	0,7	0,4	0,4	0,9	0,2
<i>a</i> C16:0	1,2	1,6	0,1	0,6	1,1	0,2
C16:0	13,4	11,8	11,2	15,6	14,8	15,9
C16:1 ω 9	1,7	1,8	0,2	1,4	1,7	0,0
C16:1 ω 7	10,3	9,3	4,7	12,1	11,8	9,9
<i>i</i> C17:0	1,8	1,5	0,6	1,0	0,8	1,0
<i>a</i> C17:0	0,5	0,5	0,2	0,8	0,6	0,2
C16:2 ω 4	1,0	1,1	1,5	3,0	1,8	2,3
C17:0	0,5	0,5	0,8	0,3	0,5	0,5
C16:3 ω 4	1,8	1,7	2,5	9,1	5,3	7,5
∇ 17 (9,10)	1,0	0,7	0,1	1,5	1,0	0,2
<i>i</i> C18:0	1,1	0,6	0,3	2,4	1,1	0,4
C16:4 ω 1	0,8	1,8	1,9	1,2	0,8	0,8
C18:0	4,1	4,0	5,4	2,0	3,0	2,9
C18:1 ω 9	4,3	3,1	1,0	3,9	3,2	0,7
C18:1 ω 7	6,5	5,1	4,5	2,4	4,4	3,6
C18:2 ω 6	1,7	1,5	1,1	2,2	1,4	1,0

Tableau 19 : rapports C/N et compositions en acides gras de la matière organique particulaire et du zooplancton (*Eurytemora affinis*) pour des prélèvements effectués autour de la BM en avril et en mai.

Espèce Chimique Acides Gras (%)	MOP (15h) surface Avril	MOP (15h) fond Avril	Zoo (15h) Avril	MOP (11h) surface Mai	MOP (11h) fond Mai	Zoo (11 h) Mai
C19:0	0,3	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2
C18:3 ω 6	0,1	0,2	0,9	0,4	0,3	0,3
C18:3 ω 3	3,4	1,9	2,5	6,1	3,4	3,0
C20:0	0,5	0,8	0,3	0,3	0,7	0,0
C20:1 ω 9	1,0	0,7	0,5	0,2	0,2	0,2
C20:1 ω 7	0,4	0,4	0,9	0,1	0,0	0,3
C20:2 ω 6	0,2	0,2	0,7	0,1	0,1	0,0
C21:0	0,1	0,2	0,1	1,1	1,3	1,0
C20:4 ω 6	1,5	1,1	1,2	0,2	0,2	0,7
C20:3 ω 3	0,8	0,4	0,1	0,1	0,1	0,2
C20:5 ω 3	12,4	9,8	22,7	13,0	11,9	19,1
C22:0	1,4	2,4	0,7	0,7	1,9	0,4
C22:1 ω 9	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1
C22:1 ω 7	0,2	0,2	1,0	0,0	0,0	0,6
C24:0	1,5	3,9	0,2	0,7	1,8	0,1
C22:6 ω 3	5,8	8,4	22,4	3,9	7,2	15,0
C25:0	0,5	1,3	0,0	0,3	0,7	0,0
C26:0	1,6	2,8	0,0	0,5	1,5	0,0
C27:0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0
C28:0	2,2	2,5	0,0	0,4	1,3	0,0
C29:0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,5	0,0
C30:0	0,0	2,3	0,0	0,3	0,9	0,0
C31:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C32:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
AG Totaux/COP (mg/g)	8,0	6,9	64,7	30,7	12,7	55,2

Suite tableau 19 : rapports C/N et compositions en acides gras de la matière organique particulaire et du zooplancton (*Eurytemora affinis*) pour des prélèvements effectués autour de la BM en avril et en mai.

Espèce Chimique Stérols (%)	MOP (15h) surface Avril	MOP (15h) fond Avril	Zoo (15h) Avril	MOP (11h) surface Mai	MOP (11h) fond Mai	Zoo (11 h) Mai
Sténols						
Trans 22 deshydrocholestérol	9,7	7,0	3,1	9,1	6,2	4,1
Cholestérol	31,6	33,6	91,1	31,6	31,9	89,4
Brassicastérol	4,6	3,8	0,9	5,0	3,9	0,5
Campestérol	7,3	7,1	2,0	12,5	8,8	3,6
Stigmastérol	3,4	3,5	0,4	4,0	2,6	0,6
β -sitostérol	19,1	16,1	1,2	17,0	15,4	0,7
Stanols						
Cholestanol	6,6	7,2	1,2	5,5	9,1	0,9
Brassicastanol	1,6	1,3	0,2	0,8	1,1	0,2
Campestanol	1,8	1,4	0,0	1,0	0,7	0,0
Stigmastanol	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1
β -sitostanol	6,0	12,8	0,0	5,8	13,1	0,0
Coprostanol	5,3	3,7	0,0	4,7	6,0	0,0
24-éthyl coprostanol	0,0	0,0	0,0	2,6	1,3	0,0
*copr/(*copr+choles)	0,4	0,3	0,0	0,5	0,4	0,0
Σ %stanols	24,3	28,9	1,4	20,8	31,3	1,2
ST totaux (mg.g ⁻¹)	1,9	0,9	9,5	2,1	0,3	4,3

Tableau 20 : compositions en stérols de la matière organique particulaire et du zooplancton (*Eurytemora affinis*) pour des prélèvements effectués autour de la BM en avril et en mai (*choles : cholestanol ; *copro : coprostanol).

polyinsaturés sont majoritaires et représentent entre 49,3 et 61,6 % des acides gras totaux. Les deuxième et troisième fractions par ordre d'importance sont constituées des acides gras saturés et monoinsaturés dont les proportions sont comprises respectivement entre 24,2 et 33,9 % et entre 10,6 et 16,4 % des acides gras totaux. Les acides gras ramifiés sont minoritaires et leurs variations entre 2,0 et 4,2 % ne sont pas significativement différentes d'un cycle à l'autre. Les rapports AG totaux/COP et ST totaux/COP compris entre 62,2 et 168,9 mg/g et entre 2,8 et 9,5 mg/g varient beaucoup au cours des deux cycles de marée. Ceci peut être du, soit à une grande variabilité de concentration d'un prélèvement à l'autre, soit au fait que ce rapport est issu d'un calcul faisant intervenir les poids frais des différents échantillons. La détermination de ces poids est assez imprécise à cause de la teneur en eau qui est variable d'un échantillon à l'autre. Ceci est l'hypothèse la plus probable quant à la variabilité des valeurs obtenues.

L'analyse des catégories d'acides gras des copépodes au cours des cycles de marée indique qu'il n'existe pas de grandes disparités de compositions. Pourtant entre la BM et la PM, les espèces zooplanctoniques dominantes sont différentes. A BM, c'est le copépode estuarien *Eurytemora affinis* qui est largement majoritaire tandis qu'à PM il s'agit du copépode marin *Acartia clausi* (Mouny, 1998). Ceci indique que ces deux espèces se développant dans des biotopes différents ont une composition très similaire.

II.1.b. Compositions détaillées en AG et ST d'*Eurytemora affinis* et comparaison avec la MOP

Les compositions en AG et en ST individuels des copépodes en avril et en mai ont été comparées entre elles et à celles de la MOP pour les prélèvements ponctuels réalisés autour de la BM (tableaux 19 et 20). En effet à BM, sont observés les maximums d'abondance d'*Eurytemora affinis* : 500 000 ind/m³ en avril et 1 000 000 ind/m³ en mai 1997 (Mouny, 1998). La composition de la fraction à 200 µm sera donc celle des individus adultes d'*Eurytemora*, ainsi que les stades CIII, CIV et CV.

Le rapport C/N est généralement le plus faible dans les organismes animaux qui sont riches en protéines donc en azote. Les rapports atomiques C/N de 4,8 et de 6,3 ont été déterminés dans les copépodes. Il est plus faible que celui obtenu pour la matière organique particulaire qui varie de 7,4 à 8,7 (tableau 19).

Les valeurs obtenues dans les copépodes de l'estuaire de Seine sont du même ordre de grandeur que celles déterminées pour le même type d'organismes prélevés dans la région de l'Antarctique. Des valeurs de $5,0 \pm 0,14$ et $4,1 \pm 0,18$ y ont été déterminées respectivement pour les copépodes *Calanoides acutus* et *Metridia gerlachei* (Schnack *et al.*, 1985). Ces copépodes ont été prélevés à une station abondante en phytoplancton et riche en diatomées du genre *Thalassiosira*.

Tous les acides gras présents dans la matière organique particulaire sont aussi identifiés dans la fraction zooplanctonique (tableau 19). Les composés prédominants sont les mêmes, en particulier le C14:0, le C16:0, le C16:1 ω 7, C16:3 ω 4, le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3. Les AG saturés en C14:0 et C16:0 sont en proportions équivalentes dans la MOP et le zooplancton. On n'observe pas de très grandes différences de proportion entre la MOP et le zooplancton pour les polyinsaturés à 16 atomes de carbone caractéristiques des diatomées comme C16:2 ω 4 ou le C16:3 ω 4. Par contre, le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3 sont en plus fortes proportions dans la fraction zooplanctonique que dans la MOP.

Les AG ramifiés à 15 et 17 atomes de carbone d'origine bactérienne sont en proportions plus faibles dans les copépodes que dans la MOP. Par contre, le rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 est de 4,5 et 5,1 en avril et en mai dans les copépodes et il varie de 0,6 à 1,6 dans la MOP. Cependant ceci est dû à une diminution de la proportion en C18:1 ω 9 et non à une augmentation de celle en C18:1 ω 7.

Pour les sténols, on constate une nette prédominance du cholestérol dans les copépodes (89 et 91 %) (tableau 20). Cette prédominance est beaucoup plus nette que dans la MOP (32 à 34 %). Les autres sténols sont donc minoritaires dans les copépodes ; c'est le cas des sténols typiquement d'origine phytoplanctonique comme le trans 22 deshydrocholestérol et le brassicastérol. C'est surtout le cas pour le β -sitostérol d'origine terrigène et phytoplanctonique. Les proportions varient entre 15 et 19 % dans la MOP et sont voisines de 1 % dans les copépodes. Par ailleurs, au cours des cycles de marée on ne retrouve pas d'acides gras terrigènes (> C24:0) dans la fraction zooplanctonique. Si tous les sténols présents dans la MOP sont retrouvés dans la fraction zooplanctonique, ce n'est pas le cas pour les stanols. Ceux-ci sont en proportions relativement élevées dans la MOP (21 à 31 % des ST totaux) et sont en très faibles proportions ou absents dans les copépodes. C'est le cas par exemple du cholestanol tandis que les stanols d'origine fécale que sont le coprostanol et l'éthyl coprostanol y sont absents. Le rapport coprostanol / (coprostanol + cholestérol) peut être

utilisé comme marqueur d'une pollution fécale quand il est supérieur à 0,7 (Grimalt *et al.*, 1990). Lors de notre étude une valeur de 0,3 à 0,5 a été déterminée dans la MOP ce qui indique que la pollution fécale est très atténuée dans l'estuaire de la Seine. L'absence des stanols fécaux dans les copépodes, indique une absence totale de contamination de ceux-ci vis à vis de ce type de pollution.

II.2. Variations de la composition d'*Eurytemora* au cours d'incubations

Des incubations de copépodes ont été réalisées du 27 au 29 avril 1998, à bord du navire Côte d'Aquitaine. Le but était de mettre en évidence une éventuelle incidence des incubations sur la composition en AG et en ST des copépodes et aussi d'étudier la composition des fèces alors récupérées. Deux incubations l'une de 16 h et l'autre de 35 h ont été effectuées dans des incubateurs réalisés par Benoît Sautour actuellement à l'université de Bordeaux. La durée maximale d'incubation a été limitée à 35 h pour garder les copépodes en vie. Les fèces des copépodes n'ont été récupérées que pour l'incubation de 16 h. Pour celle de 35 h, des copépodites initialement présents parmi les adultes ont traversé le système de séparation entre le corps de l'incubateur et son extrémité inférieure où les fèces sédimentées sont récupérées. La présence des copépodites a modifié la composition en AG et en ST des fèces récupérées. Aussi, les résultats correspondants ont-ils été écartés.

II.2.a. Compositions des différentes fractions particulières

Quelques caractéristiques des eaux de surface et de fond dans lesquelles ont été récupérés les copépodes utilisés lors des incubations du 27 au 29 avril 1998 sont rassemblées dans le tableau 21. Les eaux de surface (47,8 mg/L) sont moins chargées en MES que les eaux de fond (112,6 mg/L) (tableau 21). Le pourcentage de COP au sein des MES est d'environ 3 % pour les eaux de surface et de fond. La MOP des eaux de fond a un caractère plus détritique que celle des eaux de surface et ceci est attesté par un rapport C/N et une teneur en phéopigments plus importants. Par contre la teneur en chlorophylle est plus élevée dans les eaux de surface (6,8 $\mu\text{g.l}^{-1}$) que dans les eaux de fond (1 $\mu\text{g.l}^{-1}$). Cependant cette teneur est très

inférieure à celles déterminées au printemps 1997 en situation d'abondance du phytoplancton d'eau douce (20 à 40 $\mu\text{g.l}^{-1}$).

La faiblesse du développement algal est due au peu d'ensoleillement alors observé et aussi à la situation de crue dans la Seine. Les 27, 28 et 29 avril les débits de la Seine étaient respectivement de 919, 937 et 1193 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$. Ces valeurs sont très supérieures à la moyenne. Après une crue avec un débit maximum de 1225 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ le 20 avril, une décroissance temporaire a été observée mais les débits ont commencé à réaugmenter à partir du 27 avril pour culminer le 3 mai à 1359 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$. Ils ont diminué par la suite régulièrement et une valeur de 353 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ a été établie le 31 mai.

Prélèvement	Salinité (PSU)	MES (mg.l^{-1})	% de COP dans les MES	Rapport C/N (rapport atomique)	Chlorophylle-a ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Phéopigments ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
Eau de surface	2,5	47,8	2,9	9,2	6,8	1,2
Eau de fond	6,3	112,6	2,7	10,2	1,0	18,6

Tableau 21 : quelques caractéristiques des eaux prélevées en 1998.

Fraction	% en COP par rapport au COP total des eaux de surface	% en AG totaux par rapport au AG totaux particulaires de surface	% en ST totaux par rapport aux ST totaux particulaires de surface
40 μm	0,3	1,4	1,2
63 μm	0,2	1,1	0,9
200 μm	1,1	0,5	0,6

Tableau 22 : importance du COP et des acides gras (AG) et des stérols (ST) totaux des différentes fractions récupérées par tamisage par rapport au COP, aux AG et aux ST particuliers des eaux de surface en avril 1998.

Lors des prélèvements de copépodes, différentes fractions ont été récupérées par tamisage. Les copépodes adultes ainsi que les stades CIII, CIV et CV ont été récupérés sur un tamis de diamètre de pores de 200 μm . Deux autres fractions à 63 μm et 40 μm ont été simultanément récupérées. Les nauplii et les stades CI et CII sont normalement dans la fraction à 63 μm . Du phytoplancton peut être présent dans la fraction à 40 μm sous la forme

Espèce Chimique (%)	Incubation de 16 h			Incubation de 35 h	
	Copépodes avant incubation	Copépodes après incubation	Pelotes fécales	Copépodes avant incubation	Copépodes après incubation
Rapport C/N	5,2	5,3	7,5	5,1	5,3
AG saturés	31,0	29,6	67,8	27,0	30,8
AG monoinsaturés	9,7	10,2	12,9	11,7	11,7
AG polyinsaturés	56,7	57,4	11,7	58,0	54,0
AG ramifiés	2,6	2,8	7,6	3,4	3,2
C14:0	5,2	6,4	14,6	6,7	6,2
C16:0	18,3	16,5	38,1	14,9	18,5
C16:1 ω 7	3,9	4,8	6,9	5,7	4,7
C16:2 ω 4	1,0	0,9	0,7	1,7	1,2
C16:3 ω 4	1,8	1,6	1,6	4,4	2,7
C16:4 ω 1	0,8	0,7	0,6	1,3	0,7
C18:1 ω 9	0,7	0,8	1,3	0,7	0,8
C18:1 ω 7	4,1	3,6	3,3	3,5	4,3
C18:2 ω 6	0,4	0,4	0,0	1,0	0,9
C18:3 ω 3	1,4	1,6	1,3	2,3	1,7
C20:5 ω 3	23,7	26,3	4,1	25,0	22,8
C22:6 ω 3	24,7	22,8	1,9	19,0	21,2
AG totaux/COP (mg/g)	269,8	113,8	36,4	87,1	24,7

Tableau 23 : rapport C/N et proportions des principaux acides gras (AG) des copépodes avant et après incubation et des pelotes fécales en avril 1998.

de cellules ou d'assemblages de cellules de grande taille. Des analyses au compteur Coulter réalisées lors des campagnes PREASEAV ont néanmoins montré que les associations de diatomées dans la zone oligohaline avait un diamètre moyen de 30 μm (Lafite *et al.*, 1995). Aussi, cette fraction à 40 μm n'est pas représentative de l'ensemble du phytoplancton. Pour les incubations, nous n'avons utilisé que la fraction à 200 μm qui contient les copépodes adultes.

Le COP des différentes fractions récupérées par tamisage ne représente qu'une faible partie du COP total présent dans l'eau (tableau 22). En d'autres termes, la majeure partie du COP est associée à des particules de taille inférieure à 40 μm . Si on compare les trois fractions entre elles, on constate que la fraction à 200 μm , caractéristique des copépodes adultes, est plus riche en COP que les deux autres fractions, mais qu'elle est environ deux fois plus pauvre en acides gras et en stérols.

On peut estimer le COP phytoplanctonique en multipliant la teneur en chlorophylle (6,8 $\mu\text{g.l}^{-1}$) par un facteur de 50 couramment utilisé dans la littérature. Il représente 0,34 mg.l^{-1} soit 24,7 % du COP total dans les eaux de surface. Le COP de la fraction à 200 μm , représente alors 4,5 % du COP phytoplanctonique. Enfin la fraction à 40 μm ne représente que 1,2 % du COP algal total. Ceci confirme qu'elle ne représente qu'une minorité de cellules par rapport à l'ensemble du phytoplancton.

II.2.b. Compositions en acides gras (AG) et en stérols (ST) des copépodes lors des incubations

Les compositions des copépodes en AG avant et après incubation sont rapportées dans le tableau 23. Avant incubation les AG polyinsaturés sont majoritaires (57 – 58 %). Les AG saturés représentent environ 30 % et les monoinsaturés 10 % (tableau 23). Les AG ramifiés représentent environ 3 % des AG totaux, et ils sont donc nettement minoritaires. Les AG saturés lourds à plus de 26 atomes de carbone sont absents. Le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3 sont les deux polyinsaturés prédominants et collectivement, ils représentent 44 à 48 % des AG totaux. Les polyinsaturés en C16, tels que le C16:2 ω 4, le C16:3 ω 4 et le C16:4 ω 1, de même que le C18:3 ω 3 sont aussi présents mais en faibles proportions, comprises entre 0,8 et 4,4 %. La composition des copépodes est très similaire à celle obtenue en 1997 (tableaux 19 et 20).

Acides gras (%)	% dans les copépodes par rapport au début de l'incubation	
	Au bout de 16h	Au bout de 35 h
AG totaux	52,7	35,4
AG saturés	50,3	40,5
AG monoinsaturés	55,5	35,4
AG polyinsaturés	53,3	33,2
AG ramifiés	57,0	33,5
C14:0	64,4	32,6
C16:0	47,5	43,8
C16:1 ω 7	65,5	29,9
C16:2 ω 4	47,4	25,4
C16:3 ω 4	47,9	21,9
C16:4 ω 1	45,8	20,3
C18:0	41,5	38,9
C18:1 ω 9	54,1	40,1
C18:1 ω 7	45,7	43,0
C18:2 ω 6	50,0	31,5
C18:3 ω 3	61,7	26,4
C20:5 ω 3	58,5	32,2
C22:6 ω 3	48,6	39,6

Tableau 24 : proportions des principaux AG présents dans les copépodes au bout de 16 et 35 h par rapport à la quantité initiale en avril 1998.

Espèce Chimique Stérols (%)	Incubation de 16 h			Incubation de 35 h	
	Copépodes avant incubation	Copépodes après incubation	Pelotes fécales	Avant incubation	Après incubation
*Trans-22	4,3	4,0	2,4	4,9	4,9
Cholestérol	87,2	86,5	87,4	86,3	86,2
Brassicastérol	2,3	2,9	0,8	1,9	2,4
Campestérol	3,0	3,2	5,9	3,0	3,0
Stigmastérol	0,9	0,9	0,0	0,9	1,0
β -sitostérol	1,1	1,2	1,9	1,1	1,1
Cholestanol	0,7	0,7	1,6	0,7	0,4
Brassicastanol	0,3	0,2	0,0	0,3	0,2
Campestanol	0,0	0,0	0,0	0,7	0,5
β -sitostanol	0,3	0,4	0,0	0,3	0,3
ST totaux/COP (mg/g)	4,0	3,1	0,4	0,8	0,5

Tableau 25 : compositions en stérols des copépodes avant et après incubation et composition des pelotes fécales en avril 1998 (*Trans-22 : trans 22 déshydrocholestérol).

Stérol (%)	% dans les copépodes par rapport au début de l'incubation	
	Au bout de 16 h	Au bout de 35 h
Trans-22 deshydrocholestérol	71,8	69,0
Cholestérol	76,2	68,0
Brassicastérol	96,3	83,1
Campestérol	82,7	68,9
Stigmastérol	73,8	68,9
β -sitostérol	83,7	62,9
Cholestanol	80,2	40,1
Brassicastanol	58,7	46,7
Campestanol	n.d.*	55,5
β -sitostanol	84,3	84,9
ST totaux	76,7	68,0

Tableau 26 : proportions des stérols (ST) présents dans les copépodes au bout de 16 et 35 h par rapport à la quantité initiale (n.d. : non déterminé) en avril 1998.

L'incubation change très peu la composition des copépodes, que ce soit au niveau du rapport C/N, des proportions des catégories d'AG ou de celles des différents AG individuels (tableau 23). Par contre, d'un point de vue quantitatif, les AG totaux ne représentent que 52,7 % des AG totaux initiaux au bout de 16 h d'incubation et 35,4 % au bout de 35 h (tableau 24). Par rapport à ces valeurs globales, de légères fluctuations sont observées pour les AG individuels. Le temps d'incubation est probablement trop court pour qu'une modification de la composition en AG se produise.

La composition des pelotes fécales (incubation de 16 h) est par contre très différente de celle des copépodes (tableau 23). Les AG saturés y sont prédominants et représentent 68 % des AG totaux. La proportion des polyinsaturés (12 %) est voisine de celle des monoinsaturés (13 %). La proportion des ramifiés (environ 8 %) est plus forte que celle observée dans les copépodes (environ 3 %). Le rapport C/N est aussi plus élevé dans les fèces (7,5) que dans les copépodes (5,1 à 5,3). Les AG prépondérants sont le C16:0 (38 %) et le C14:0 (15 %). Ils sont donc préférentiellement excrétés par rapport aux autres AG. Par contre, le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3 sont en proportions beaucoup plus faibles dans les fèces (respectivement 4 et 2 %) que dans les copépodes (26 et 23 %). Ces composés sont donc préférentiellement assimilés et retenus par les copépodes .

Le C16:1 ω 7, et les polyinsaturés en C16 et C18 sont en proportions sensiblement équivalentes dans les fèces et les copépodes. Ces composés sont donc assimilés mais moins retenus par les copépodes.

Les compositions en ST des copépodes avant et après incubation sont rapportées dans le tableau 25. On constate la prédominance du cholestérol qui représente environ 87 % des ST totaux. Les phytostérols et en particulier le trans-22 déshydrocholestérol, le campestérol et le brassicastérol sont présents en faibles proportions (2 à 5 %). Le β -sitostérol, qui représente environ 13 % des ST totaux dans la MOP des eaux de surface et de fond, est très peu abondant dans les copépodes (environ 1 % des ST totaux). La proportion de stanols est inférieure à 2 %.

De même que pour les AG, l'incubation ne change pas de manière significative les proportions respectives des différents stérols (tableau 26). Par contre, les proportions de ST par rapport aux quantités initiales diminuent au cours de l'incubation mais plus faiblement que pour les AG. On retrouve en effet 76,7 % des ST totaux initiaux au bout de 16 h et 68 % au bout de 35 h (tableau 26). Ces valeurs sont fortement influencées par celles du cholestérol qui est le composé largement prédominant. Des proportions plus faibles sont cependant

déterminées au bout de 35 h pour le campestérol (68,9 %), le trans 22 deshydrocholestérol (69,0 %) et surtout le cholestanol (40,1 %).

La composition des pelotes fécales est aussi dominée par le cholestérol (tableau 25) qui est en proportion équivalente (86,5 % – 87,4 %) dans les copépodes. Parmi les phytostérols minoritaires, le trans-22 deshydrocholestérol et le brassicastérol sont en proportions plus faibles dans les pelotes fécales que dans les copépodes. C'est le contraire pour le campestérol, le β -sitostérol et le cholestanol. Ceci suggère que ces trois composés sont donc préférentiellement excrétés, par rapport aux autres ST.

II.3. Le régime alimentaire d'*Eurytemora affinis*

Il a été suggéré que dans les estuaires turbides, la production primaire ne suffisait pas à satisfaire entièrement à l'alimentation du zooplancton. L'hypothèse que le zooplancton puisse ingérer et assimiler de la matière organique détritique a été proposée il y a environ 20 ans (Heinle et Flemer, 1975 ; Heinle *et al.*, 1977 ; Chervin, 1978).

Cependant, il a été montré récemment que le phytoplancton pouvait néanmoins être l'alimentation principale en présence de teneurs en MES inférieures à 100 mg/L (Gasparini, 1997).

Lors de cette étude, les prélèvements de copépodes ont été réalisés alors que les teneurs en MES dans les eaux de surface étaient inférieures à 100 mg/L. Cependant, dans les eaux de fond des teneurs supérieures ont été observées, notamment lors des remises en suspension.

L'analyse de différents échantillons prélevés au cours des printemps 1997 et 1998 indique que la composition en AG d'*Eurytemora affinis* est relativement stable. Les principales caractéristiques sont une prédominance des polyinsaturés (> 50 % des AG totaux) et notamment du C20:5 ω 3 et du C22:6 ω 3. Les polyinsaturés en C16 (C16:2 ω 4, C16:3 ω 4 et C16:4 ω 1) et en C18 (C18:3 ω 3 et C18:3 ω 6) sont présents en plus faibles proportions. Les AG ramifiés à 15 et 17 atomes de carbone sont toujours minoritaires (2 à 4 % des AG totaux). Les AG saturés lourds (> C24:0) ne sont pas détectés.

Il est généralement admis que les possibilités des copépodes pour synthétiser et transformer les AG sont très limitées car ils sont incapables de réaliser la synthèse de *novo* des

acides gras en $\omega 3$ (Fraser *et al.*, 1989). Aussi l'opinion courante est que leur composition est principalement déterminée par ce qu'ils ingèrent. Toutefois la possibilité d'une transformation du C18:3 $\omega 3$ en C22:6 $\omega 3$ par le copépode d'eau douce *Eucyclops serrulatus*, nourri à partir de micro-algues, a été avancée (Desvilettes *et al.*, 1997b). Cependant les capacités de biotransformation des copépodes marins, et en particulier d'*Eurytemora affinis*, ne sont pas connues, du moins à notre connaissance.

Les polyinsaturés sont d'origine phytoplanctonique. Ainsi le C20:5 $\omega 3$ et les polyinsaturés en C16 déterminés dans les copépodes (C16:2 $\omega 4$, C16:3 $\omega 4$ et C16:4 $\omega 1$) sont typiquement synthétisés par les diatomées. On peut donc en conclure que ces algues sont consommées par les copépodes. Le phytoplancton d'eau douce dans la partie fluviale de l'estuaire de la Seine est généralement dominé au printemps par les diatomées avec une contribution minoritaire des chlorophycées (Garnier *et al.*, 1997). Par ailleurs une consommation peu importante de chlorophycées (Chuecas et Riley, 1969) est suggérée par les faibles proportions de C18:3 $\omega 3$, ou l'absence de C18:4 $\omega 3$ et de C16:4 $\omega 3$ (Johns *et al.*, 1979). De même une ingestion significative de cyanophycées serait caractérisée par des proportions notables en C18:3 $\omega 6$, C18:3 $\omega 6$, C18:2 et C18:4 (Pohl, 1982).

On peut noter que les proportions de C20:5 $\omega 3$ dans les copépodes sont plus élevées que celles habituellement déterminées dans les diatomées (6 à 20%) (Volkman *et al.*, 1989). De même peut-on noter les fortes proportions du C22:6 $\omega 3$ qui sont comparables à celles du C20:5 $\omega 3$ (de 15 à 20 % des AG totaux). Le C22:6 $\omega 3$ est en effet habituellement en faible proportion chez les diatomées. On pourrait ici proposer l'absorption de certaines algues riches en ce composé comme les dinophycées ou certaines chrysophycées. Néanmoins certaines caractéristiques des dinophycées ne sont pas retrouvées chez les copépodes. C'est le cas de la prédominance du C18:1 $\omega 9$ sur le C18:1 $\omega 7$, de la présence de C18:5 $\omega 3$ et celle de certains stérols typiques comme le dinostérol (4 α , 23, 24-triméthyl-5- α -cholest-22-ène-3 β -ol) (Nichols *et al.*, 1983). De même les chrysophycées sont généralement riches en C18:3 $\omega 3$ et en C18:4 (Volkman *et al.*, 1989). Ceci n'est pas le cas pour les copépodes. Cependant une consommation par les copépodes d'une espèce riche en C22:6 $\omega 3$ ne peut être entièrement exclue. Ce pourrait être par exemple le cas de rotifères ou de larves de dreissènes présentes dans la partie fluviale de l'estuaire de la Seine.

Le C20:5 $\omega 3$ et le C22:6 $\omega 3$ sont des AG pouvant être qualifiés d'indispensables pour les organismes animaux, notamment les poissons et tous les organismes vertébrés. Ils ont

notamment un rôle au niveau des processus anaboliques et de croissance, du fonctionnement de la membrane cellulaire, de la régulation du métabolisme (formation des prostaglandines) (Olsen, 1998). Cependant, il n'est pas sûr qu'ils aient un rôle essentiel dans les organismes zooplanctoniques (Arts, 1998). Néanmoins, ceux-ci pourraient être sensibles à la présence de sources de nourriture comportant de fortes proportions de C20:5 ω 3 ou de C22:6 ω 3 ou au moins pourraient avoir développé des stratégies efficaces pour emmagasiner et conserver ces composés (Arts, 1998). Ces stratégies pourraient aussi expliquer les fortes proportions de C22:6 ω 3 dans *Eurytemora affinis* se nourrissant à partir d'algues phytoplanctoniques contenant une faible proportion de ce composé. Elles peuvent aussi expliquer les fortes proportions de C20:5 ω 3 dans cet organisme. Dans nos expériences, la rétention en C20:5 ω 3 et C22:6 ω 3 est indirectement mise en évidence par les faibles proportions déterminées dans les fèces (< 5%) par rapport à celles déterminées dans les copépodes (> 20 %) (tableau 23).

Delaunay *et al.* (1993) ont mis en évidence une accumulation préférentielle du C22:6 ω 3 dans les lipides neutres de larves de *Pecten maximus* (coquille Saint Jacques) nourries à partir d'algues possédant plus de C20:5 ω 3 ou de C18:4 ω 3 que de C22:6 ω 3. De plus, lorsqu'il apparaît une déficience en C22:6 ω 3 au niveau de l'alimentation, il y a alors accumulation de composés précurseurs comme le C20:5 ω 3 ou le C18:3 ω 3 ; toutefois leur taux de transformation en C22:6 ω 3 est faible (Delaunay *et al.*, 1993). Les acides gras polyinsaturés à 20 et 22 atomes de carbone issus de l'alimentation et accumulés dans les lipides neutres peuvent servir à élaborer des phospholipides via l'action d'enzymes comme l'acyltransférase (Marty *et al.*, 1992) associées aux membranes des cellules (Delaunay *et al.*, 1993 ; Olsen, 1998). Dans les œufs de *Pecten maximus*, les acides gras polyinsaturés à 20 et 22 atomes de carbone sont accumulés de manière plus accentuée dans les lipides polaires (Soudant *et al.*, 1996a). Il existe un mécanisme de rétention du C20:4 ω 6, du C20:5 ω 3 et du C22:6 ω 3 même lorsque ces composés se trouvent en faibles proportions. Par ailleurs, le C22:6 ω 3 (et aussi le C20:4 ω 6) est préférentiellement incorporé dans les phospholipides par rapport au C20:5 ω 3. Il est probable qu'il a un rôle biochimique plus important dans les membranes que le C20:5 ω 3, particulièrement dans les mécanismes de l'embryogenèse et de l'orogenèse. Ainsi, il apparaît qu'un rapport C22:6 ω 3/C20:5 ω 3 supérieur à 1 semble être nécessaire pour éviter une déficience des larves de *Pecten maximus* (Soudant *et al.*, 1996b) et un rapport supérieur à 2 est recommandé pour les poissons (Sargent, 1995).

La composition des copépodes en AG est aussi caractérisée par de faibles proportions en AG ramifiés (< 3 % des AG totaux). Cette proportion est plus élevée dans les fèces (8 %). Ceci est probablement dû aux bactéries initialement présentes dans le système digestif d'*Eurytemora affinis* et qui se développent sur la matière détritique éjectée. Les copépodes se caractérisent par un rapport C18:1 ω 7/C18:1 ω 9 compris entre 4,5 et 5,9 (tableau 20 et 23). Il n'est cependant pas sûr que ce soit dû à une influence bactérienne. En effet dans les fèces ce rapport diminue puisqu'il n'est que de 2,5. Par ailleurs, la contribution bactérienne à l'alimentation d'*Eurytemora affinis* apparaît ici comme relativement mineure par rapport à la source phytoplanctonique. Enfin, l'absence d'AG lourds chez les copépodes indique que ceux-ci ne consomment pas de MOP détritique issus des végétaux supérieurs.

Le cholestérol est le stérol prédominant chez *Eurytemora affinis* et représente entre 86 et 91 % des ST totaux. Pour ces composés, nous n'avons que peu de renseignements sur les possibilités métaboliques d'*Eurytemora affinis*. Il est admis généralement que les crustacés marins sont incapables de réaliser la synthèse de *novo* des stérols et en particulier du cholestérol (Goad, 1981). Celui-ci est pourtant le principal ST de ces organismes où il représente souvent plus de 95 % des ST totaux (Goad, 1981). Ainsi, le cholestérol est probablement d'origine phytoplanctonique. En effet il est le stérol prédominant dans certaines diatomées des genres *Nitzschia*, *Thalassiosira*, et *Melosira* ; il représente 67 % des stérols totaux chez *Melosira granulata* (Volkman, 1986, et références citées), une diatomée dulçaquicole qui a par ailleurs été identifiée dans l'estuaire de la Seine (Lafite *et al.*, 1995). Soudant *et al.* (1998) ont montré que si des larves de *Pecten maximus* étaient nourries avec des diatomées de l'espèce *Chaetoceros calcitrans* qui synthétisent du cholestérol, celles-ci ont la capacité de le concentrer. De ce fait les proportions en cholestérol trouvées dans les larves (71 %) sont toujours supérieures à celles des algues (46 %).

La rétention sélective du cholestérol observée pour *Pecten maximus* (Soudant *et al.*, 1998) peut aussi être proposée pour *Eurytemora affinis* pour expliquer sa forte proportion. Un mécanisme alternatif ou complémentaire pourrait être la transformation en cholestérol de certains stérols ayant une structure voisine. Cependant à notre connaissance, aucune étude n'existe sur les capacités d'*Eurytemora affinis* à ce sujet.

La présence de phytostérols minoritaires tels que le trans 22 deshydrocholestérol et le brassicastérol confirme l'ingestion de diatomées par *Eurytemora affinis*. Cependant, le brassicastérol et le campestérol sont aussi synthétisés par d'autres types d'algues tels que les

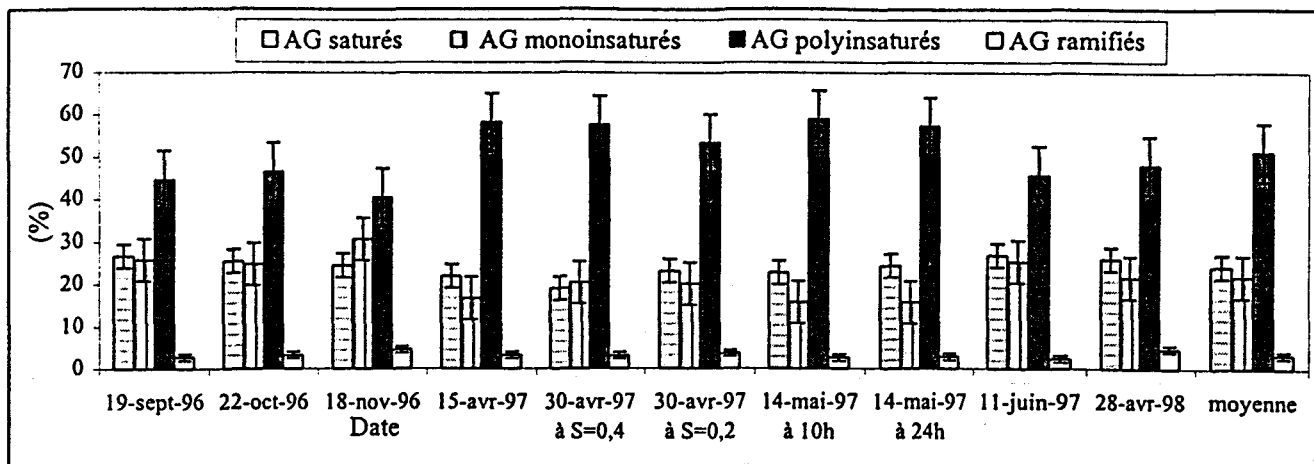


Figure 85 : Variations des différentes catégories d'AG (saturés, monoinsaturés, polyinsaturés, ramifiés) pour différents mois dans les estomacs de crevette (barres verticales : écart type calculés par rapport à la moyenne pour chaque catégorie d'AG ; S : salinité).

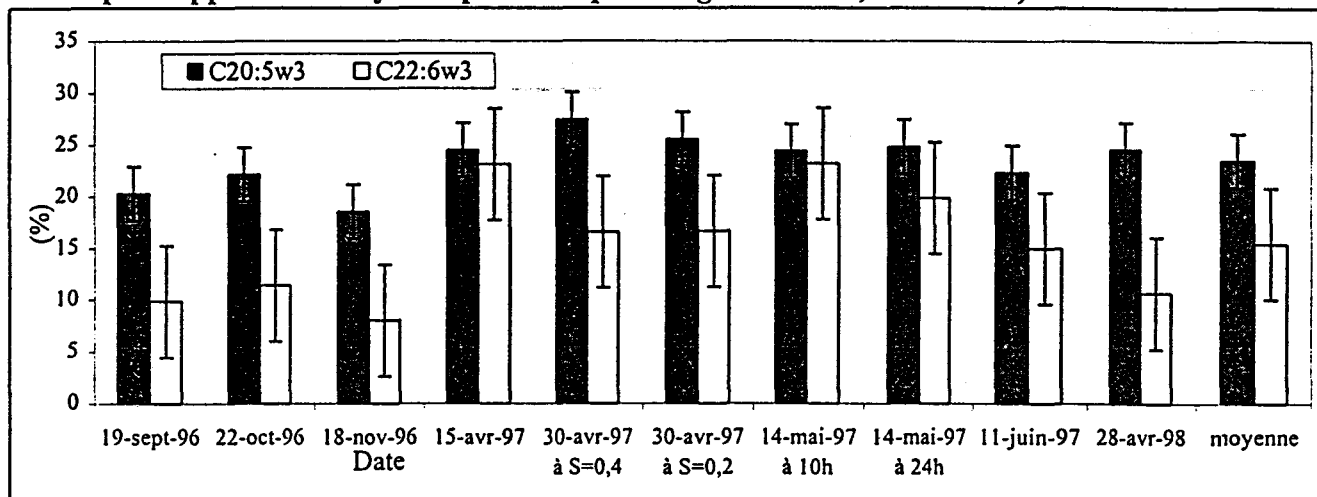


Figure 86 : Variations des proportions en C20:5w3 et C22:6w3 pour différents mois dans les estomacs de crevette.

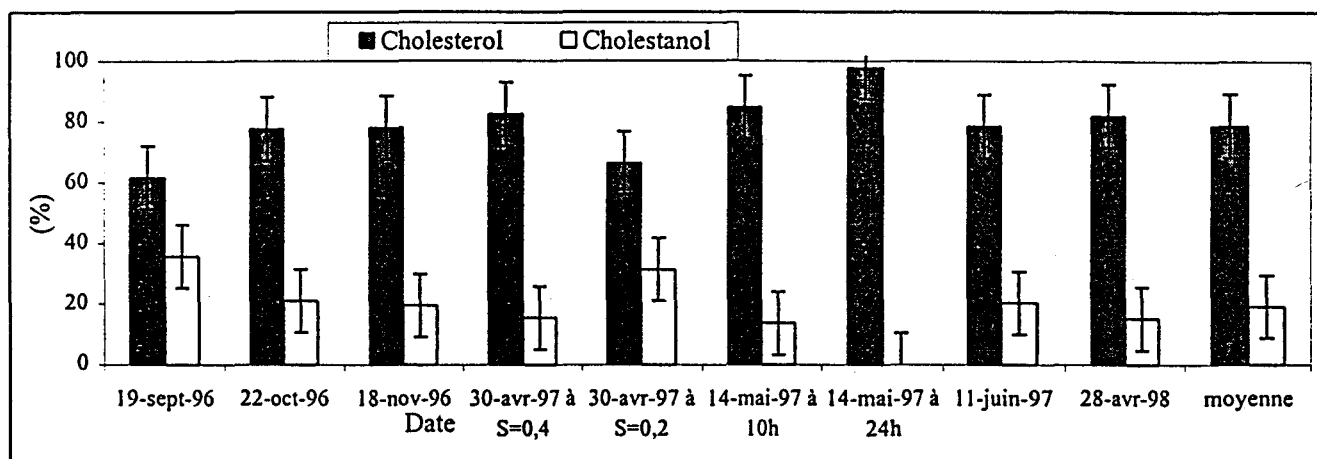


Figure 87 : Variations des proportions en cholestérol et cholestanol pour différents mois dans les estomacs de crevettes.

prymnésiphytes. Les quelques renseignements que nous avons sur les chrysophytes font état de la synthèse de stigmastérol par les espèces du genre *Ochromonas* (Volkman, 1986). Ce stérol est cependant en faible proportion ici. L'absence de stérols possédant un groupement méthyl en position 4 (méthyl-4-stérols) typique des dinoflagellés indique que ces organismes ne sont pas ingérés dans le cas présent par les copépodes. La très faible proportion de β -sitostérol présente dans les copépodes (1 % des ST totaux) confirme l'absence ou la très faible ingestion de particules issues des végétaux supérieurs, ou de cellules algales comme les cyanophytes.

Enfin l'absence de coprostanol et d'éthylcoprostanol indique aussi l'absence d'ingestion par les copépodes de particules issues de la pollution fécale.

En conclusion, on peut émettre ici l'hypothèse d'un choix des particules par *Eurytemora affinis*. Ceci est suggéré par plusieurs constatations :

- la prédominance des cellules phytoplanctoniques dans la nourriture d'*Eurytemora* alors que celles-ci sont dispersées au sein de particules purement détritiques.

- ensuite l'absence d'ingestion de particules détritiques notamment d'origine terrigène ou issues des rejets urbains (origine fécale).

Ce choix peut être dicté par l'intérêt nutritif des particules. Cependant, il peut aussi être du, au moins en partie, à la taille de ces particules.

III. Etude de *Palaemon longirostris*

III.1. Variations saisonnières de la composition des estomacs

Les contenus stomacaux de *Palaemon longirostris* ont été analysés à différents mois en 1996, 1997 et en 1998 pour détecter une éventuelle variation de leur composition. A chaque fois les estomacs ont été récupérés sur 10 à 15 individus. Les variations individuelles des différentes catégories d'acides gras pour des échantillons prélevés à diverses époques de l'année ne sont en général significativement pas différentes d'un mois à l'autre (figure 85). En moyenne, les AG polyinsaturés sont majoritaires et représentent $51,1 \% \pm 6,8$. Les AG saturés et monoinsaturés sont en proportions similaires soit respectivement $24,0 \% \pm 2,4$ et

21,6 % \pm 5,0. Les AG ramifiés (branchés) sont minoritaires (moyenne 3,3 % ; écart type 0,8). Les AG saturés à longue chaîne (> C24:0) d'origine terrigène sont absents des estomacs de crevettes ceci est d'autant plus remarquable que ces organismes vivent à proximité du fond dans les fortes turbidités où l'empreinte terrigène est maximale (chapitre III). On peut néanmoins constater que la proportion de polyinsaturés est plus faible en septembre, octobre et novembre. Par contre, elle est maximale en avril et mai. Des variations contraires sont observées pour les saturés et monoinsaturés.

Parmi les AG polyinsaturés majoritaires, on trouve dans les estomacs de crevettes essentiellement du C20:5 ω 3 et du C22:6 ω 3 (figure 86). Le C20:5 ω 3 reste l'AG majoritaire au cours des saisons et ses proportions varient moins que celles du C22:6 ω 3, qui varient du simple au double probablement selon la plus ou moins grande abondance du plancton. Les proportions maximales sont observées en avril et en mai.

La somme cholestérol et cholestanol représente plus de 95 % des ST totaux (figure 87). Le cholestanol est trouvé en fortes proportions (20 % des ST totaux) dans les estomacs sauf lors d'un prélèvement de nuit le 24 mai 1997 à minuit (figure 87). Lors de ce prélèvement le cholestérol représente à lui seul 98 % des ST totaux.

III.2. Compositions détaillées en AG et en ST des estomacs de *Palaemon longirostris* et comparaison avec la MOP et *Eurytemora affinis*

Des prélèvements ponctuels de crevettes (entre 10 et 15 individus) ont été réalisés lors des cycles de marée d'avril (à t = 15h) et de mai (t = 10h) 1997, et ceci aux environs de la BM. La composition des estomacs de crevettes en AG et en ST a été comparée à celles des copépodes et de la MOP prélevées au même moment (tableaux 27, 28, 29 et 30). Cette comparaison est cependant un peu aléatoire en raison de la variabilité de la composition de la MOP, qui est à priori plus importante sur une courte échelle de temps que celles des estomacs de crevettes ou de la composition des copépodes.

Par ailleurs, ici il n'est question que d'enrichissement ou d'appauvrissement relatif en AG ou ST dans les différentes fractions.

Espèce chimique Acides Gras (%)	MOP (15h) surface	MOP (15h) fond	Zooplancton (15h)	Estomacs de Crevettes (15h)
C/N	8,7	7,4	5,1	5,1
AG saturés	31,2	32,0	26,5	21,8
AG monoinsaturés	24,7	21,0	13,1	16,7
AG polyinsaturés	29,7	28,2	57,5	58,3
AG ramifiés	10,2	9,4	2,9	3,2
AG lourds	4,2	9,4	0,0	0,0
C14:0	7,2	6,6	6,5	4,2
C16:0	13,3	11,9	11,2	11,9
C16:1 ω 7	10,3	9,3	4,7	2,9
C16:2 ω 4	1,0	1,1	1,5	0,7
C16:3 ω 4	1,8	1,7	2,5	0,3
C18:3 ω 3	3,3	1,9	0,9	2,0
C20:5 ω 3	12,4	9,8	22,7	24,5
C22:6 ω 3	5,8	8,4	22,4	23,1
AG totaux/COP (mg/g)	8,0	6,9	64,7	38,2

Tableau 27 : rapports C/N et proportions des principaux acides gras de la matière organique particulaire, du zooplancton (*Eurytemora affinis*) et des estomacs de crevettes (*Palaemon longirostris*) pour des prélèvements effectués à 15 h lors du cycle d'avril 1997.

Espèce Chimique Acides Gras (%)	MOP (11h) surface	MOP (11h) fond	Zooplancton (11h)	Estomacs de Crevettes (10h)
C/N	7,7	7,9	4,8	5,2
AG saturés	31,0	31,7	31,2	22,7
AG monoinsaturés	20,2	21,5	15,4	15,7
AG polyinsaturés	40,2	33,7	50,9	59,0
AG ramifiés	7,2	8,1	2,5	2,6
AG lourds	1,4	5,0	0,0	0,0
C14:0	8,8	6,8	10,2	4,7
C16:0	15,6	14,8	15,9	11,5
C16:1 ω 7	12,1	11,8	9,9	4,6
C16:2 ω 4	3,0	1,8	2,4	0,9
C16:3 ω 4	9,1	5,3	7,5	2,6
C18:3 ω 3	6,1	3,4	3,0	1,9
C20:5 ω 3	13,0	11,9	19,0	24,4
C22:6 ω 3	3,9	7,2	15,0	23,2
AG totaux/COP (mg/g)	30,7	12,4	55,2	82,4

Tableau 28 : rapport C/N et proportions des principaux acides gras de la matière organique particulaire, du zooplancton (*Eurytemora affinis*) et des estomacs de crevettes (*Palaemon longirostris*) pour des prélèvements effectués à 11 h lors du cycle de mai 1997.

Espèce Chimique Stérols (%)	MOP (15h) surface	MOP (15h) fond	Zooplancton (15h)	Estomacs de Crevettes (15h)
Sténols				
Trans 22 deshydrocholestérol	9,7	7,0	3,1	0,5
Cholestérol	31,6	33,6	91,1	98,1
Brassicastérol	4,6	3,8	0,9	0,2
Campestérol	7,3	7,1	2,0	0,6
Stigmastérol	3,4	3,5	0,4	0,3
β -sitostérol	19,1	16,1	1,2	0,2
Stanols				
Cholestanol	6,6	7,2	1,2	0,0
Brassicastanol	1,6	1,3	0,2	0,0
Campestanol	1,8	1,4	0,0	0,0
Stigmastanol	0,0	0,0	0,0	0,0
β -sitostanol	6,0	12,8	0,0	0,0
Coprostanol	5,3	3,7	0,0	0,0
24-éthyl coprostanol	3,0	2,5	0,0	0,0
Σ %stanols	24,3	28,9	1,4	0,0
ST totaux/COP (mg/g)	1,9	0,9	9,5	1,3

Tableau 29 : compositions en stérols de la matière organique particulaire, du zooplancton (*Eurytemora affinis*) et des estomacs de crevettes (*Palaemon longirostris*) pour des prélèvements effectués à 15 h lors du cycle d'avril 1997.

Espèce Chimique Stérols (%)	MOP (11 h) surface	MOP (11 h) fond	Zooplancton (11 h)	Estomacs de Crevettes (10 h)
Sténols				
Trans 22 deshydrocholestérol	9,1	6,2	4,1	0,1
Cholestérol	31,6	31,9	89,4	84,7
Brassicastérol	5,0	3,9	0,5	0,3
Campestérol	12,5	8,8	3,6	0,8
Stigmastérol	4,0	2,6	0,6	0,4
β -sitostérol	17,0	15,4	0,7	0,8
Stanols				
Cholestanol	5,5	9,1	0,9	13,6
Brassicastanol	0,8	1,1	0,2	0,0
Campestanol	1,0	0,7	0,0	0,0
Stigmastanol	0,4	0,0	0,1	0,0
β -sitostanol	5,8	13,1	0,0	0,0
Coprostanol	4,7	6,0	0,0	0,0
24-éthyl coprostanol	2,6	1,3	0,0	0,0
Σ %stanols	20,8	31,3	1,2	13,6
ST totaux/COP (mg.g ⁻¹)	2,1	0,3	4,3	12,4

Tableau 30 : compositions en stérols de la matière organique particulaire, du zooplancton (*Eurytemora affinis*) et des estomacs de crevettes (*Palaemon longirostris*) pour des prélèvements effectués à 11 h lors du cycle de mai 1997.

Le rapport C/N varie de 7,4 à 8,7 dans la MOP, il est plus faible dans le zooplancton et les estomacs de crevettes où les valeurs trouvées sont similaires (4,8 à 5,2) (tableaux 27 et 28). Les estomacs de crevettes en avril et en mai ont des rapports C/N respectivement de 5,1 et 5,2. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues pour les copépodes (4,8 et 5,1). Par contre, elles sont inférieures à celles obtenues pour la MOP, qui sont comprises entre 7,4 et 8,7. Les AG polyinsaturés sont majoritaires dans les estomacs de crevettes. Ils représentent 58 et 59 % des AG totaux (tableaux 27 et 28). Ces proportions sont légèrement supérieures à celles déterminées dans la MOP. D'une manière générale, les compositions des estomacs de crevettes et des copépodes sont très similaires. Par rapport à la MOP, elles se caractérisent par une moindre importance des monoinsaturés, des AG ramifiés et aussi par l'absence des AG lourds d'origine terrigène.

Les principaux AG individuels sont les mêmes dans toutes les fractions. Si on considère successivement la MOP de surface ou de fond, le zooplancton et les estomacs de crevettes, on constate un enrichissement progressif en C20:5 ω 3 et C22:6 ω 3 (tableaux 27 et 28). *A contrario*, on constate par exemple un appauvrissement en C16:1 ω 7. Néanmoins l'évolution n'est pas forcément "linéaire". On observe ainsi en mai pour le C14:0, une proportion plus élevée dans les copépodes par rapport à la MOP et aux estomacs de crevettes. On peut noter aussi que les proportions de C16:2 ω 4 et de C16:3 ω 4 sont systématiquement plus faibles dans les estomacs de crevettes que dans les copépodes.

Les concentrations des AG totaux (tableaux 27 et 28) et aussi en ST totaux (tableaux 29 et 30), exprimées en mg/g de COP sont plus élevées dans les copépodes et les estomacs de crevettes que dans la MOP. Les valeurs obtenues pour chaque type d'échantillon sont relativement variables pour les deux expériences mentionnées ici. Ainsi que nous l'avons précédemment indiqué ceci est probablement dû au mode d'obtention des poids secs (passage à l'étuve et au dessiccateur). L'utilisation d'une technique plus performante comme la lyophilisation aurait sans doute permis d'obtenir de meilleurs résultats.

Tous les sténols présents dans les estomacs de crevettes le sont dans les autres fractions (tableaux 29 et 30). De même que pour les copépodes, on constate une prédominance importante du cholestérol sur les autres composés. Ceci est particulièrement vrai en avril où il représente 98,1 % des ST totaux (29 et 30). Les différents phytostérols identifiés en faibles proportions dans *Eurytemora* le sont aussi dans *Palaemon*. Pour le trans 22

Espèce chimique Acides Gras (%)	Estomacs de Crevettes (10h)	Estomacs de Crevettes (24h)
AG saturés	22,7	24,25
AG monoinsaturés	15,7	15,65
AG polyinsaturés	59,0	57,3
AG ramifiés	2,6	2,8
C14:0	4,7	5,5
C16:0	11,5	11,7
C16:1 ω 7	4,6	4,7
C16:2 ω 4	0,9	1,1
C16:3 ω 4	2,5	2,7
C18:0	3,8	3,9
C18:1 ω 9	4,2	3,5
C18:1 ω 7	5,3	5,5
C18:2 ω 6	1,6	1,8
C20:4 ω 6	2,1	2,1
C20:5 ω 3	24,4	24,8
C22:6 ω 3	23,2	19,9

Tableau 31 : proportions des principaux AG des estomacs de crevettes pour un prélèvement de jour (10 h) et de nuit (24 h) lors du cycle de mai 1997.

Espèce chimique Stérols (%)	Estomacs crevettes (10h)	Estomacs crevettes (24h)
Trans 22 deshydrocholestérol	0,1	0,5
cholestérol	84,7	97,8
brassicastérol	0,3	0,3
campestérol	0,8	0,9
stigmastérol	0,3	0,3
bétasitostérol	0,2	0,0
cholestanol	13,6	0,0
brassicastanol	0	0,2
bétasitostanol	0,0	0,0

Tableau 32 : compositions en ST des estomacs et des fèces de crevettes pour un prélèvement de jour (10 h) et de nuit (24 h) lors du cycle de mai 1997.

deshydrocholestérol et le campestérol, les proportions sont systématiquement plus faibles dans les crevettes que dans les copépodes.

Les stanols ne sont pas détectés dans les estomacs de crevettes en avril. Ils le sont dans les copépodes (1,4 % des ST totaux) mais en proportions beaucoup plus importante que dans la MOP de surface et de fond (24 et 29 %). Par contre en mai, on peut noter un pourcentage important de cholestanol dans les crevettes (13,6 %). La somme cholestanol + cholestérol représente alors 98,3 % des ST totaux et est équivalent au pourcentage trouvé en avril. Cette observation n'est pas isolée. En effet sur la totalité des onze échantillons de crevettes étudiés en 1996, 1997 et 1998 y compris ceux d'avril et de mai (figure 85), de forts pourcentages en cholestanol (compris entre 13,6 et 35,8 %) ont été trouvés dans 9 d'entre eux. Par contre, le coprostanol et le 24 éthyl coprostanol ne sont pas du tout détectés dans les estomacs de crevettes. Ceci a aussi été observé dans les copépodes.

III.3. Influence des conditions diurnes et nocturnes sur la composition des estomacs de *Palaemon*

Lors du cycle de mai 1997 des prélèvements de crevettes ont été réalisés à t=10 h et à t=24 h et ceci pour déterminer si l'alternance des conditions diurnes et nocturnes ont une quelconque influence sur la composition des estomacs. Bien que les prélèvements aient été réalisés à deux moments différents, l'un le jour (t=10 h), l'autre la nuit (t=24 h), les proportions en AG et en ST dans les estomacs sont très similaires entre elles (tableaux 31 et 32). On retrouve en particulier un fort pourcentage d'AG polyinsaturés même pour le prélèvement de nuit. Cependant, une diminution de 3 % est observée pour le C22:6 ω 3, entre le prélèvement de 10 h et celui de 24 h. La valeur alors obtenue (19,9%) n'est néanmoins pas significativement différente de la moyenne calculée à partir de 10 prélèvements réalisés le jour, et qui est de 15,4 \pm 5,4 (figure 86).

Une seule différence est notable pour les stérols, dans les estomacs prélevés à t = 10 h la proportion en cholestérol est de 85 % et celle en cholestanol de 14 %. Pour le prélèvement à t = 24 h la proportion en cholestérol est beaucoup plus élevée puisqu'elle est de 98 % mais le cholestanol n'y est pas détecté. Etant donné qu'il s'agit d'une observation ponctuelle, il n'est pas possible d'affirmer avec certitude que l'absence de cholestanol est reliée aux conditions

Espèce chimique Acides gras (%)	Incubation de 35 h		
	Estomacs avant incubation	Estomacs après incubation	Pelotes fécales
Rapport C/N	5,2	5,8	5,4
AG saturés	25,8	26,0	76,1
AG monoinsaturés	21,5	20,4	7,6
AG polyinsaturés	48,0	48,4	6,7
AG ramifiés	4,7	5,1	9,6
C14:0	4,1	3,7	20,5
C16:0	15,5	15,5	41,1
C16:1 ω 7	5,9	6,1	4,1
C16:2 ω 4	0,7	0,1	0,5
C16:3 ω 4	0,9	0,7	1,2
C16:4 ω 1	1,0	1,0	0,5
C18:1 ω 9	7,1	6,4	1,3
C18:1 ω 7	7,0	6,8	1,6
C18:2 ω 6	3,8	3,2	0,5
C18:3 ω 3	1,9	2,0	0,4
C20:5 ω 3	24,6	26,0	2,2
C22:6 ω 3	10,7	11,1	1,2
AG Totaux/COP (mg/g)	152,4	60,9	10,1

Tableau 33 : rapport C/N et proportions des principaux acides gras des estomacs de crevettes avant et après incubation, et composition des fèces en avril 1998.

Espèce chimique Stérols (%)	Incubation de 35 h		
	Estomacs avant incubation	Estomacs après incubation	Pelotes fécales
Trans 22 deshydrocholestérol	0,2	0,4	2,2
Cholestérol	82,0	95,0	88,3
Brassicastérol	0,8	1,3	2,0
Campestérol	1,0	1,8	0,0
Stigmastérol	0,3	0,7	2,8
β -sitostérol	0,3	0,7	2,8
Cholestanol	15,1	0,1	4,8
Phytostanols*	0,2	0,0	0,0
ST Totaux/COP (mg/g)	6,6	2,3	0,3

Tableau 34 : compositions en stérols des estomacs de crevettes avant après incubation, et composition des fèces en avril 1998 (*phytostanols = Σ (brassicastérol + campestanol + stigmastanol + β -sitostanol)).

nocturnes. Il est probable que le cholestanol habituellement présent provienne dans ce cas de la réduction du cholestérol. Ceci pourrait être réalisé dans l'estomac de *Palaemon* par l'intermédiaire de bactéries hétérotrophes.

A l'exception du cholestanol, il n'apparaît pas ici de différence de composition due aux conditions diurnes et nocturnes. Une série d'échantillons plus importante permettrait de rendre plus sûre cette affirmation. Les crevettes vivent en permanence à proximité du fond dans un environnement turbide donc à priori peu éclairé quel que soit le moment de la journée. L'influence de l'alternance jour-nuit sur leur régime alimentaire n'est pas évidente. Par ailleurs, il est connu que cette alternance jour-nuit a une influence sur la photosynthèse des algues et donc de la biosynthèse des lipides (Orcutt et Patterson, 1974 ; Fisher et Schwarzenbach, 1978 ; Shifrin et Chisholm, 1981 ; Sakshaug *et al.*, 1987 ; Sicko-Goad *et al.*, 1988 ; Sukenik et Carmeli, 1990 ; Brown *et al.*, 1996 ; Véron *et al.*, 1996). Cependant, ceci a surtout été mis en évidence pour des expériences de laboratoire. Enfin, il n'a pas non plus été prouvé, du moins à notre connaissance, que cette alternance a une influence sur la composition du zooplancton herbivore et sur les maillons supérieurs de la chaîne alimentaire.

III.4. Variations de la composition en des estomacs de *Palaemon longirostris* et des pelotes fécales lors d'une incubation

L'incubation des crevettes a été réalisée en avril 1998 simultanément à celle des copépodes, et elle a duré 35 h. Les compositions en AG et en ST des estomacs de crevettes avant et après incubation et des pelotes fécales sont rapportées dans les tableaux 33 et 34. On peut signaler que les résultats obtenus ne pourront être directement comparés à ceux relatifs aux copépodes. En effet pour ceux-ci, à la différence des crevettes, les organismes entiers ont été analysés.

III.4.a. Compositions en acides gras (AG) et stérols (ST) des estomacs de crevette avant et après incubation

Avant incubation, les estomacs ont une composition similaire à celle qui a déjà été décrite. Les AG polyinsaturés sont prédominants (48,0 %) par rapport aux AG saturés (25,8 %), aux AG monoinsaturés (21,5 %) et aux AG ramifiés minoritaires (4,7 %) (tableau 33). Le

Pourcentage dans les estomacs par rapport au début de l'incubation			
Acide gras (%)	t=35 h	Stérol (%)	t = 35 h
AG totaux	39,9	Stérols totaux	33,9
AG saturés	40,2	Trans 22 déshydrocholestérol	65,5
AG monoinsaturés	38,0	Cholestérol	39,4
AG polyinsaturés	40,3	Brassicastérol	58,8
AG ramifiés	43,1	Campestérol	60,8
C14:0	36,0	Stigmastérol	67,6
C16:0	40,0	β -sitostérol	71,4
C16:1 ω 7	41,1	Cholestanol	0,3
C16:2 ω 4	7,7	Brassicastanol	0,0
C16:3 ω 4	29,0	Campestanol	0,0
C16:4 ω 1	38,1	β -sitostanol	0,0
C18:1 ω 9	35,9		
C18:1 ω 7	39,3		
C18:2 ω 6	32,9		
C18:3 ω 3	42,1		
C20:5 ω 3	42,2		
C22:6 ω 3	41,6		

Tableau 35 : proportions des principaux acides gras (AG) et stérols (ST) présents dans les estomacs de crevettes au bout de 35 h par rapport à la quantité initiale.

C20:5 ω 3 est le polyinsaturé prédominant (24,6 %) et il est en proportion environ deux fois supérieur à celle du C22:6 ω 3 (tableau 33). Les polyinsaturés en C16 sont en proportions inférieures ou égales à 1 %. Le C18:3 ω 3 et le C18:2 ω 6 sont en proportions plus élevées, respectivement 1,9 et 3,8 %. Parmi les monoinsaturés (tableau 33), on peut noter des proportions similaires en C16:1 ω 7, C18:1 ω 7 et C18:1 ω 9 (de 6 à 7 %). Le cholestérol est le stérol largement majoritaire car il représente 82 % des ST totaux (tableau 34). On peut noter un pourcentage non négligeable en cholestanol (15 %).

Comme pour les copépodes, l'incubation n'a pas fait varier de façon très importante les proportions des différentes catégories d'AG, ni celles des AG individuels. Par contre, pour les stérols on peut noter une diminution importante de la proportion de cholestanol (de 15,1 % à 0,1 %) et par contre coup une augmentation de la proportion en cholestérol. Le cholestanol a été partiellement excrété, mais étant donnée la faible teneur dans les fèces (18 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) par rapport à celles des estomacs de crevettes avant incubation (1198 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), il apparaît qu'une grande partie du cholestanol a été aussi absorbée et probablement retransformée sous forme de cholestérol. L'incubation ayant eu lieu dans des incubateurs en quasi-obscurité. On peut rapprocher ce résultat de celui discuté au paragraphe III.3.

Au niveau quantitatif, les concentrations en AG et en ST ont diminué entre le début et la fin de l'incubation (tableau 35). La concentration en AG totaux au bout de 35 h ne représente plus que 39,9 % de la concentration initiale. Des valeurs similaires ont été déterminées pour les concentrations des différentes catégories d'AG, et celles des AG individuels ; le C16:2 ω 4 et le C16:3 ω 4 sont des exceptions car leurs proportions ont diminué respectivement de 92 % et de 71 %. Ces composés étaient néanmoins initialement en faibles concentrations et représentaient chacun moins de 1 % des AG totaux.

La concentration en ST totaux en fin d'incubation ne représente que 33,9 % de la concentration initiale. Cette valeur, légèrement plus faible que celle obtenue pour les AG totaux, est principalement influencée par la valeur obtenue pour le cholestérol et qui est de 39,4 %. Cette valeur est relativement voisine de celles obtenues pour les différents AG individuels majoritaires (de 36 à 42 %). Elle traduit principalement l'assimilation du cholestérol par les crevettes. Les phytostérols minoritaires sont mieux conservés que le cholestérol puisqu'ils sont retrouvés avec des taux compris entre 58,8 et 71,4 %. Ils sont donc moins, ou pas du tout, assimilés par les crevettes. Par contre, les phytostanols ne sont pas retrouvés en fin d'incubation et ont probablement été totalement éliminés par excrétion.

III.4.b. Compositions en AG et ST des estomacs et des fèces de crevettes

Les rapports C/N des estomacs et des fèces sont similaires (tableau 33). Par contre, ce n'est pas le cas pour les AG (tableau 33). Les fèces sont plus riches en AG saturés qui sont alors majoritaires (76,1 % des AG totaux). C'est aussi le cas pour les AG ramifiés qui représentent environ 9,6 % contre environ 4,9 % (moyenne) dans les estomacs. Par contre, les fèces sont plus pauvres en AG monoinsaturés et en AG polyinsaturés.

Si on compare les pourcentages des acides gras individuels, on constate que l'enrichissement relatif des fèces par rapport aux estomacs est constaté pour tous les acides gras saturés mais que la principale contribution est due au C16:0 et à moindre degré au C14:0. Ceux-ci représentent ensemble 62 % des AG totaux, contre environ 19 % dans les estomacs.

Les polyinsaturés en C16 sont retrouvés en proportions équivalentes dans les fèces et dans les estomacs. D'autres, comme le C18:2 ω 6 et le C18:3 ω 3 et surtout le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3, sont en proportions plus faibles dans les fèces, et ceci indique que ces composés sont préférentiellement assimilés. Ceci est aussi le cas pour le C18:1 ω 9, le C18:1 ω 7 et à un moindre degré pour le C16:1 ω 7.

A l'inverse des AG, le cholestérol, qui est le principal stérol intéressant du point de vue nutritionnel, est aussi en proportion importante dans les fèces (tableau 34). Ceci est probablement dû à sa forte prédominance dans la nourriture ingérée par *Palaemon longirostris*. Par contre les phytostérols, à l'exception du campestérol, sont en proportions plus importantes dans les fèces que dans les estomacs et ceci témoigne de leur excrétion préférentielle. Un pourcentage relativement élevé de cholestanol est aussi observé dans les fèces.

III.4.c. Comparaisons des AG et des ST excrétés par *Eurytemora affinis* et *Palaemon longirostris*

Les fèces excrétées par *Eurytemora affinis* et par *Palaemon longirostris* ont des compositions très similaires que ce soit pour les AG (tableaux 23 et 33) ou les ST (tableaux 25 et 34). Elles sont caractérisées par la prédominance des AG saturés. Cette prédominance est plus accentuée pour les crevettes que pour les copépodes. Par contre coup, les fèces de

Palaemon sont plus pauvres en AG monoinsaturés et en AG polyinsaturés. Elles sont par contre légèrement plus riches en AG ramifiés bactériens. On retrouve dans les fèces très peu d'AG essentiels comme le C20:5 ω 3 et C22:6 ω 3. Les AG saturés prédominants sont le C16:0 et le C14:0.

Le cholestérol est prédominant dans les deux types de fèces. Au niveau des phytostérols, on peut noter que le campestérol, qui représente 6 % des ST totaux dans les fèces de copépodes, n'est pas détecté dans celles de crevettes. Par contre, le cholestanol est en proportions plus élevées dans les fèces de crevettes (5 %) que dans celles de copépodes (2 %).

On peut enfin remarquer que les stanols d'origine fécale (coprostanol et 24-éthyl coprostanol) sont absents dans les deux cas.

III.5. Le régime alimentaire de *Palaemon longirostris*

Très peu de travaux ont été réalisés sur le régime alimentaire de la crevette blanche *Palaemon longirostris*. Elle est classée dans la catégorie des espèces prédatrices et nécrophages car son alimentation varie au cours de son existence (Sorbe, 1981) :

- au stade mysis, elles se nourrissent de diatomées.
- au stade juvénile, leur alimentation varie et elles se nourrissent surtout de petits copépodes estuariens (*Eurytemora* et *Acartia*).
- au stade adulte, elles peuvent consommer des mysidacés (Marchand, 1981) et témoignent d'une tendance à la nécrophagie.

Notre étude a mis en évidence qu'au printemps, les estomacs de *Palaemon longirostris* sont caractérisés par la prédominance des AG polyinsaturés qui y sont majoritaires (tableaux 27 et 28). Parmi ceux-ci le C20:5 ω 3 et le C22:6 ω 3 sont les composés prédominants. De même la prédominance du cholestérol est aussi une caractéristique des estomacs de crevettes.

Les AG polyinsaturés et le cholestérol sont très probablement d'origine phytoplanctonique. Cependant plusieurs observations indiquent que les crevettes ne consomment pas directement les algues phytoplanctoniques. Les proportions en polyinsaturés tels que le C16:2 ω 6, le C16:3 ω 4, ou le C18:3 ω 3 sont en proportions beaucoup plus faibles que dans les organismes qui les synthétisent (diatomées et chlorophycées). La présence de ces AG dans les estomacs de crevettes devrait se traduire par des proportions beaucoup plus

élevées de ces composés. De même, les phytostérols comme le trans 22 deshydrocholestérol, le brassicastérol, le campestérol, etc..., devraient être présents en proportions beaucoup plus importantes. Une éventuelle transformation de ces composés en cholestérol n'aurait lieu qu'après une absorption de ces composés. La grande similitude des compositions des copépodes et des estomacs de crevettes en AG (tableaux 27 et 28) et en ST (tableaux 29 et 30) indique une consommation des premiers par les secondes. Des analyses par loupe binoculaire ont confirmé la présence de copépodes, avec une fréquence de 42 %, dans les estomacs des *Palaemon* (Mouny, 1998). Par contre, dans les estuaires de la Gironde et de la Loire, les copépodes ont beaucoup moins d'importance dans l'alimentation de *Palaemon* puisqu'ils sont observés avec une fréquence de présence de 5 à 6 %. Dans la Gironde, *Palaemon* se nourrit préférentiellement de mysidacés (Sorbe, 1983, cité dans Mouny, 1998), tandis que dans la Loire elle se nourrit de mysidacés et de proies benthiques (Marchand, 1981). Parallèlement à cette consommation, une concentration des composés intéressants d'un point de vue nutritif, comme le C20:5 ω 3, le C22:6 ω 3 et le cholestérol, a lieu dans les estomacs des *Palaemon*.

Le printemps est la période maximale de développement d'*Eurytemora*. Aussi, leur consommation par *Palaemon* n'a rien de surprenant. On peut noter aussi que les crevettes n'ingèrent pas de matière organique détritique d'origine terrigène ou fécale. Comme pour *Eurytemora*, il s'agit d'un choix des particules ingérées par *Palaemon*. Ce choix peut être du à l'aspect nutritif des particules et/ou à leur taille respective. Il n'est cependant pas exclu que *Palaemon* se nourrisse d'autres organismes zooplanctoniques ou suprabenthiques comme *Neomysis integer*. Ceci est notamment probable en dehors de la période printanière. On peut néanmoins noter que quelle que soit la saison, les estomacs de *Palaemon* contiennent toujours des proportions relativement élevées en C22:6 ω 3, C20:5 ω 3 et en cholestérol. *Palaemon* apparaît donc plus comme un prédateur que comme un détritivore. Une tendance nécrophage n'a pas non plus été mise en évidence. Les fortes proportions en cholestérol souvent observées ne sont à notre avis pas suffisantes pour étayer cette hypothèse. On peut en effet supposer que l'ingestion d'organismes morts, se traduirait par une modification importante du spectre d'AG (augmentation des saturés, des AG bactériens, etc...).

Concentration en MES faible (<100 mg/L en surface)

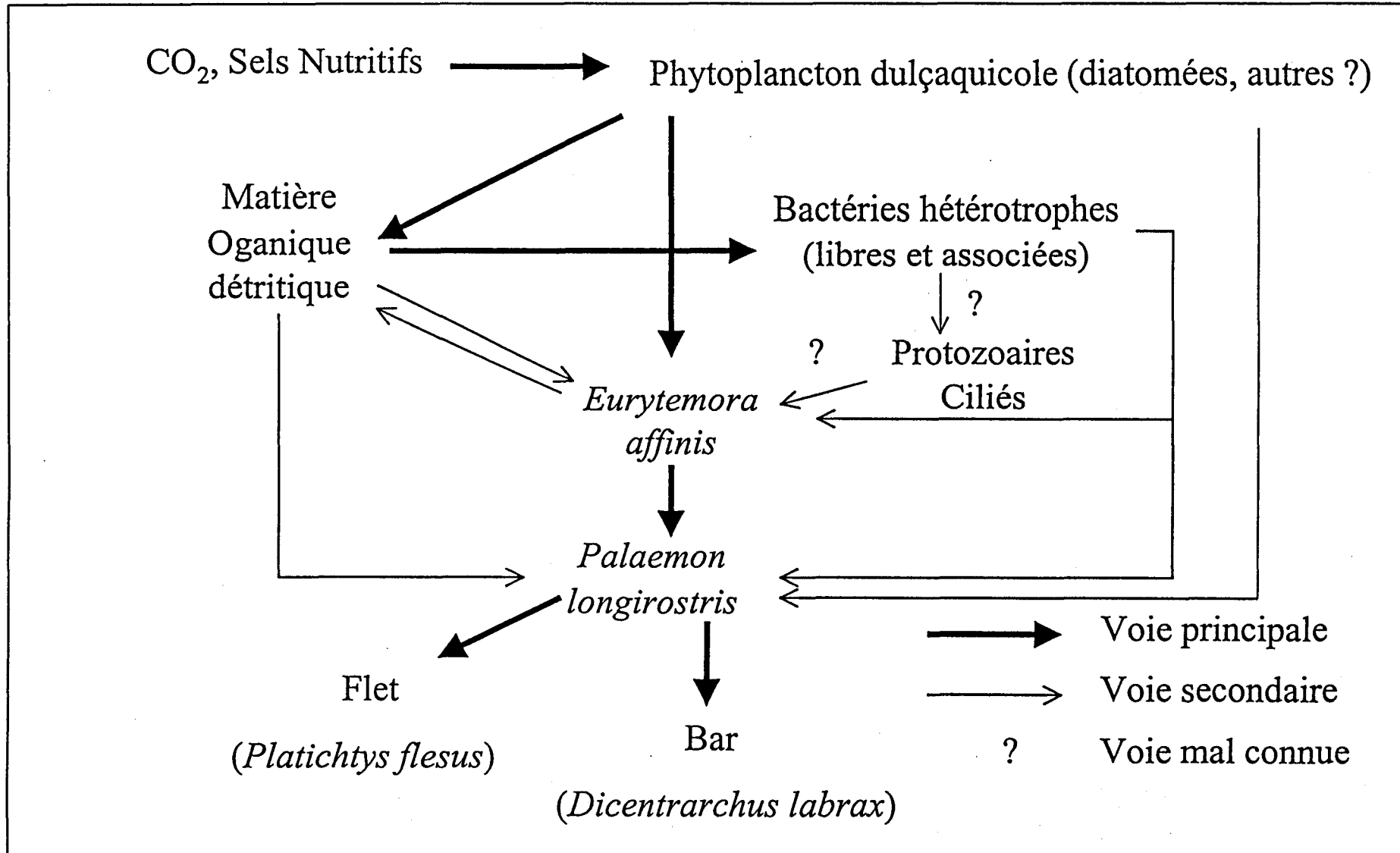


Figure 88 : Réseau trophique dans la zone oligohaline de l'estuaire de la Seine

IV. Conclusion

Les rapports C/N et les compositions en AG et en ST mettent en évidence qu'*Eurytemora affinis* au printemps a principalement un régime alimentaire phytoplanctonique (figure 88), et ceci quelle que soit l'importance du développement algal.

En avril et mai, les copépodes se nourrissent essentiellement de diatomées qui forment la classe algale majoritaire dans cette partie de l'estuaire, et ceci au détriment des chlorophycées ou des cyanophycées. Par ailleurs, les bactéries n'apparaissent pas comme une source de nourriture importante des copépodes. Ceux-ci n'ingèrent pas non plus de particules détritiques, en particulier issues des végétaux supérieurs (figure 88). Dans cet environnement turbide *Eurytemora affinis* choisit les particules qu'il ingère. Ce choix est probablement fonction de l'intérêt nutritif et aussi de la taille des particules. D'une manière générale, les copépodes semblent pouvoir consommer des proies qui ont des tailles de l'ordre de 5 à 200 μm (Gasparini, 1997).

Ces résultats sont similaires à ceux de Gasparini (1997) qui a travaillé sur le régime alimentaire d'*Eurytemora affinis* dans quatre estuaires, la Gironde, l'Elbe, l'Escaut et l'estuaire de la Mundaka (Pays Basque). Il a mis en évidence qu'*Eurytemora affinis* semble "préférer" le phytoplancton et qu'il est capable de s'adapter à des conditions très turbides en modifiant son régime alimentaire :

- pour des concentrations en MES ($< 100 \text{ mg/L}$), *Eurytemora affinis* consomme principalement le phytoplancton (cas de la Seine).
- pour des concentrations en MES ($> 300 \text{ mg/L}$), *Eurytemora affinis* va délaisser le phytoplancton et se nourrir d'organismes hétérotrophes car la "boucle microbienne", dont le premier maillon est constitué par les bactéries hétérotrophes, devient alors prédominante.

L'analyse des lipides a confirmé que *Palaemon longirostris* consomme au printemps principalement le copépode *Eurytemora affinis* (figure 88), et ceci même si l'essentiel des acides gras et des stérols est d'origine phytoplanctonique. Par ailleurs, les bactéries hétérotrophes et les particules détritiques ne sont pas des sources de nourriture importantes pour les crevettes (figure 88). Les particules détritiques, probablement minérales qui ont une

fréquence de présence de 80 à 100 % (Mouny, 1998) dans les chambres gastriques n'auraient pas un rôle alimentaire mais mécanique pour effectuer le broyage des aliments. *Palaemon longirostris* a donc un régime alimentaire à tendance carnivore qu'elle adapte en fonction de l'abondance des proies. Ce régime est basé sur les copépodes dans l'estuaire de la Seine et l'analyse des lipides confirme les observations de Mouny (1998).

Le réseau trophique dans la zone oligohaline de l'estuaire de la Seine est essentiellement pélagique. Ceci est une particularité de la partie chenalisée de l'estuaire de la Seine par rapport à d'autres estuaires comme la Gironde, l'Escaut ou la Loire où le rôle du macrozoobenthos n'est pas négligeable. L'importance du rôle du pélagos est due aux travaux d'aménagement du chenal et aux dragages qui ont souvent lieu dans cette zone de l'estuaire. Ceci a pour conséquence de limiter la colonisation des fonds par le benthos.

Le C20:5 ω 3, le C22:6 ω 3 et le cholestérol apparaissent avoir un rôle important pour *Eurytemora affinis* et *Palaemon longirostris* qui ont la capacité de concentrer ces composés au détriment d'AG ou ST moins intéressants d'un point de vue métabolique. Enfin, la comparaison des compositions respectives des copépodes, des estomacs de crevettes et des fèces met en évidence l'excrétion préférentielle de certains composés peu nutritifs. C'est le cas des acides gras saturés qui sont majoritaires dans les fèces.

Conclusion générale

L'utilisation des marqueurs lipidiques a permis de caractériser les différentes sources récentes de la MOP dans la zone oligohaline de l'estuaire de la Seine. Dans cette zone turbide, les apports des végétaux supérieurs, des bactéries, des effluents urbains sont minoritaires. Les apports phytoplanctoniques peuvent être relativement importants au printemps si les conditions météorologiques et hydrologiques sont favorables. Cependant, à cette période de l'année, il s'agit du phytoplancton apporté par les eaux douces. La présence de diatomées y est majoritaire tandis que les chlorophycées et éventuellement les cyanophycées sont minoritaires.

Malgré la forte turbidité des eaux, *Eurytemora affinis* se nourrit de phytoplancton en période printanière. La boucle microbienne n'apparaît pas ici comme étant à la base de la chaîne alimentaire. *Eurytemora* se nourrit principalement des diatomées et de faibles proportions de chlorophycées et éventuellement de cyanophycées. Cependant les fortes proportions de C20:5 ω 3 et surtout de C22:6 ω 3 et de cholestérol suggèrent la possibilité d'une rétention sélective des composés à haut pouvoir nutritif par *Eurytemora*. La similitude de compositions des estomacs de crevettes de *Palaemon* et d'*Eurytemora* indique une prédation probable du second par la première. Bien que vivant près du fond, *Palaemon longirostris* ne semble pas se nourrir de manière significative à partir de bactéries ou de matières détritiques issue des végétaux supérieurs.

Les deux organismes étudiés choisissent les particules qu'ils ingèrent. Il serait intéressant de préciser dans quelle mesure ce choix est dicté par la taille des particules ou par leur intérêt nutritif.

Eurytemora et *Palaemon* jouent aussi un rôle dans la transformation de la MOP au sein de l'estuaire. Les fèces qu'ils produisent ont un pouvoir nutritionnel amoindri. *A priori*, elles peuvent néanmoins servir de nourriture à des organismes coprophages.

Cette étude a permis de mieux connaître les premiers maillons du réseau trophique en estuaire de Seine. Il serait intéressant de vérifier si le régime alimentaire de *Palaemon* et surtout d'*Eurytemora* est toujours le même quelle que soit la saison et notamment en hiver où l'apport phytoplanctonique est minimal. Il serait intéressant de préciser le rôle du mysidacé *Neomysis integer* dont l'abondance maximale est au printemps. *Neomysis* est souvent décrit comme un prédateur d'*Eurytemora* et il peut servir de proie pour *Palaemon*. Il serait aussi intéressant d'étudier par le biais des marqueurs lipidiques les niveaux supérieurs du réseau trophique et en particulier le régime alimentaire des gobiidés, du bar et du flet. On pourrait aussi vérifier dans quelle mesure les AG phytoplanctoniques sont présents dans ces organismes.

Les AG et les ST ont servi ici de marqueurs trophiques mais uniquement d'un point de vue qualitatif dans l'étude de la composition du régime alimentaire des espèces étudiées. Il serait nécessaire de réaliser un important travail sur les capacités de biotransformation des organismes animaux avant de pouvoir prétendre y introduire un aspect quantitatif.

Bibliographie

ACKMAN, R.G, TOCHER, C.S., MAC LACHLAN, J., 1968.

Marine phytoplankters fatty acids. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 25 (8), 1603-1620.

ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D., 1983.

Molecular Biology of the cell. Garland Publishing Inc., New York, London, 1146 p.

AMINOT, A., CHAUSSEPIED, M., 1983.

Manuel des analyses chimiques en milieu marin. *CNEXO, BREST, France*, 395 p.

AMINOT, A., KEROUEL, R., 1990.

Improvement of a commercial continuous flow method for the determination of dissolved organic carbon in fresh water and seawater. *Analusis*, 18, 289-295.

ANDERSSON, B.A., HOLMAN, R.T., 1974.

Pyrrolidides for mass spectrometric determination of the position of the position of the double bond in monounsaturated fatty acids. *Lipids*, 9, 185-190.

ARTS, M.T., WAINMAN, B.C., 1998.

Lipids in Freshwater Ecosystems. Springer Verlag, New York, 319 p.

AVOINE, J., 1981.

L'estuaire de la Seine : sédiments et dynamique sédimentaire. *Thèse Univ. Caen, France*, 236 p.

AVOINE, J., LARSONNEUR, C., 1987.

Dynamics and behaviour of suspended sediment in macrotidal estuaries along the south coast of the English Channel. *Continental Shelf Res.*, 7 (11-12), 1301-1305.

BACHELET, G., CASTEL, J., DESPREZ, M., MARCHAND, J., 1997.

Biocénoses des milieux estuariens. In : Les biocénoses marines et littorales Françaises des côtes Atlantique, Manche et Mer du Nord ; Synthèse, Menaces et Perspectives, (Dauvin, J.C., Ed), Muséum d'Histoire naturelle, Paris, 130-140.

BARNATHAN, G., BOURGOUGNON, N., KORNPORST, J.M., 1998.

Methoxy fatty acids isolated from the red alga, *Schizymenia dubyi*. *Phytochemistry*, 47 (5), 761-765.

BEGHIN, V., ERNY, G., THOUMELIN, G., BODINEAU, L., WARTEL, M., 1998.

Etude des acides gras ; développement de méthodes d'identification par CPG-MS. Communication orale, 3^{ème} Journée des Jeunes Chercheurs, 10 décembre 1998, Villeneuve d'Ascq, France.

BELIN, C., MARTIN-JEZEQUEL, V., 1997.

Le phytoplancton. In : Les biocénoses marines et littorales Françaises des côtes Atlantique, Manche et Mer du Nord ; Synthèse, Menaces et Perspectives, (Dauvin, J.C., Ed), Muséum d'Histoire naturelle, Paris, 21-33.

BLIGH E. G., DYER W. J., 1959.

A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 (8), 911-917.

BODINEAU, L., 1996.

Etude de la matière organique en Manche et dans l'estuaire de la Seine. *Thèse Univ. Lille, France*, 220 p.

BODINEAU, L., THOUMELIN, G., BEGHIN, V., WARTEL, M., 1998a.

Tidal time-scale changes in particulate organic matter using fatty acid and sterol biomarkers within the estuarine turbidity maximum in the macrotidal Seine estuary, France. *Estuar., Coast. Shelf Sci.*, 47, 37-49.

- BODINEAU, L., THOUMELIN, G., BEGHIN, V., WARTEL, M., 1998b.
Particulate organic matter composition in Estuarine Turbidity Maxima (ETM) of the Seine River estuary. *Hydrobiologia*, 373/374, 281-295.
- BROWN, M.R., DUNSTAN, G.A., NORWOOD, S.J., MILLER, K.A., 1996.
Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira Pseudonana*. *J. Phycol.*, 32, 64-73
- CAMERON, W.M., PRITCHARD, D.W., 1963.
Estuaries. In : The Sea (Hill, M.N., Ed.), Wiley-Intersciences, New-York, 2, 306-324.
- CAUWET, G., MACKENZIE, F.T., 1993.
Carbon inputs and distribution in estuaries of turbid rivers: the Yang Tze and Yellow rivers (China). *Mar. Chem.*, 43, 235-246.
- CHERVIN, M.B., 1978.
Assimilation of particule organic carbon by estuarine and coastal copepods. *Mar. Biol.*, 49, 265-275.
- CHESTER, R., 1990.
Marine geochemistry. Unwin Hyman, Ltd, London, 698p.
- CHIFFOLEAU, J.F., COSSA, D., AUGER, D., TRUQUET, I., 1994.
Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Mar. Chem.*, 47, 145-158.
- CHRISTIE, W.W., 1989.
Gas chromatography and lipids. A practical guide. The Oily Press, Dundee, Scotland. 307 p.

CHUECAS L., RILEY J. P., 1969.

Components of fatty acids of the total lipids of some marine phytoplankton. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 49, 97-116.

CLAUSTRE H., POULET S.A., WILLIAMS R., BEN-MLIH F., MARTIN-JEZEQUEL V., MARTY J.C., 1992.

Relationship between the qualitative nature of particles and copepod faeces in the Irish Sea. *Mar. Chem.*, 40, 231-248.

DAVIS, J.L., 1964.

A morphogenetic approach to world shorelines. *Z. Geomorph.*, 8, 127-142.

DELAUNAY, F., MARTY, Y., MOAL, J., SAMAIN, J.F., 1993.

The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 173, 163-179.

DE PAUW, N., 1973.

On the distribution of the *Eurytemora affinis* (Poppe) (Copepoda) in the Western Scheld estuary. *Verh. Intern. Verein. Limnol.*, 18, 1462-1472.

DESVILETTES, Ch., BOURDIER, G., BRETON, J.C., COMBROUZE, P., 1994.

Fatty acids as organic markers for the study of trophic relationships in littoral cladoceran communities of a pond. *J. Plankt. Res.*, 16 (6), 643-659.

DESVILETTES, C., BOURDIER, G., AMBLARD, C., BARTH, B., 1997a.

Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*, 38, 629-637.

DESVILETTES, C., BOURDIER, G., BRETON, J.C., 1997b.

On the occurrence of a possible bioconversion of linolenic acid into docosahexaenoic acid by the copepod *Eucyclops serrulatus* fed on microalgae. *J. Plankton Res.*, 19 (2), 273-278.

DIONNE, J.C., 1963.

Towards a more adequate definition of the St. Lawrence estuary. *Z. Geomorph.*, 7, 36-44.

DOERING, P.H., OVIATT, C.A., Mc KENNA, J.H., REED, L.W., 1994.

Mixing behavior of dissolved organic carbon and its potential biological significance in the Pawcatuck river estuary. *Estuaries*, 17, 521-536.

DUNSTAN, G.A., VOLKMAN, J.K., BARETT, S.M., LEROI, J.M., JEFFREY, S.W., 1994.

Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae), *Phytochemistry*, 35 (1), 155-161.

DUPONT, J.P., GUEZENNEC, L., LAFITE, R., DETHLEFF, D., HUAULT, M.F., WANG, H.Q., LACROIX, M., MEYER, R., 1996.

Processus hydrosédimentaires de l'estuaire. Rapport SEINE-AVAL, thème hydrodynamique et transport sédimentaire, rapport 1995/FIN-1, 33-64.

DYER, K.R., 1995.

Sediment transport processes in estuaries. *Geomorphology and sedimentology of Estuaries. Developments in Sedimentology* (G.M.E. Perillo, Ed.), Elsevier Sciences B.V., 53 (14), 423-449.

EDERINGTON, M.C., MAC MANUS, G.B., HARVEY, H.R., 1995.

Trophic transfer of fatty acids, sterols, and a triterpenoid alcohol between bacteria, a ciliate, and the copepod *Acartia tonsa*. *Limnol. Oceanogr.*, 40 (5), 860-867.

ERNY, 1998.

Etude des acides gras dans l'estuaire de la Seine ; développement de méthodes d'identification par CPG-SM. *D.E.A. Instrumentation et Analyses Avancées, Université de Lille*, 28p.

FAY, L., RICHLI, U., 1991.

Location of double bonds in polyunsaturated fatty acids by gas chromatography-mass spectrometry after 4,4-dimethyloxazoline derivatization. *J. of Chromatogr.*, 541, 89-98.

FEURTET, A., 1989.

Dynamique de population, caractérisation morphologique et production secondaire d'*Eurytemora affinis hirundoïdes* (copépode Clanoïde) dans l'estuaire de la Gironde. *Thèse Univ. Bordeaux I, France*, 169 p.

FINDLAY, R.H., DOBBS, F.C., 1993.

Analysis of microbial lipids to determine biomass and detect the response of sedimentary microorganisms to disturbance. In : Kemp, P.F. ; Sherr, B.F. ; Sherr, E.B., Cole, J.J., eds *Aquatic Microbial Ecology*. Boca Raton, FL : Lewis Publisher, 347-358.

FISHER, N. S., SCHWARZENBACH, R. P., 1978.

Fatty acid dynamics in *Thalassiosira Pseudonana* (Bacillariophyceae) : implications for physiological ecology. *J. Phycol.*, 14, 143-150.

FRASER, A.J., SARGENT, J.R., GAMBLE, J.C., SEATON, D.D., 1989.

Formation and transfer of fatty acids in an enclosed marine food chain comprising phytoplankton, zooplankton and herring (*Clupea harengus* L.) larvae. *Mar. Chem.*, 27, 1-18.

GARNIER J., LEPORCQ, B., AKOPIAN, M., PHILIPPON, X., FICHT, A., 1997.

Le phytoplancton et ses facteurs de contrôle dans l'estuaire de la Seine. Importance quantitative dans le bilan d'oxygénation. Rapport du programme scientifique Seine-Aval, exercice 1996, thème fonctionnement microbiologique et contrôle de l'oxygénation, 45-74.

GASPARINI, S., 1997.

Fécondation, régime alimentaire et production des principaux copépodes planctoniques de quatre estuaires européens. *Thèse Univ. Bordeaux I, France*, 203p.

GATTEN, R.R., SARGENT, J.R., GAMBLE, J.C., 1983.

Diet induced changes in fatty acid composition of herring larvae reared in enclosed ecosystems. *J. Exp. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 63, 575-584.

GEARING, J. N., TRONCZYNSKI, J., MACKO, S. A. 1994.

Particulate organic matter in the St. Lawrence Estuary: anthropogenic and natural sources. In : *Changes in Fluxes in Estuaries: implications from Sciences to Management*, (K. R. Dyer and R. J. Orth, eds). *Fredensberg : Olsen , Olsen*, 125-130.

GILLAN, F.T., JOHNS, R.B., VERHEYEN, T.V., NICHOLS, P.D., ESDAILE, R. J., BAVOR, H.J., 1981.

Monounsaturated fatty acids as specific bacterial markers in marine sediments. In: *Advances in Organic Geochemistry* (Bjoroy, M., *et al.*, Eds.), John Wiley and Sons, New York, 198-206.

GILLAN, F.T., HOGG, R.W., 1984.

A method for estimation of bacterial biomass and community structure in mangrove-associated sediment. *J. Microbiol. Methods*, 2, 275-293.

GOAD, L.J., 1981.

Sterol biosynthesis and metabolism in marine invertebrates. *Pure Appl. Chem.*, 51, 837-852.

GOULDEN, C.E., MOELLER, R.E., MAC NAIR, J., PLACE, A.R., 1998.

Lipid dietary dependencies in zooplankton. In : *Lipids in Freshwater Ecosystems* (Eds M. T. Arts ; B.C. Wainnan Eds), 91-108.

GRAEVE, M., KATTNER, G., HAGEN, W., 1994a.

Diet-induced changes in the fatty acid composition of Arctic herbivorous copepods : Experimental evidence of trophic markers. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 182, 97-110.

GRAEVE, M., HAGEN, W., KATTNER, G., 1994b.

Herbivorous or omnivorous ? on the signification of lipid composition as trophic markers in Antarctic copepods. *Deep-Sea Res. I*, 41, 915-924.

GRIMALT, J. O., FERNANDEZ, P., BAYONA, J. P. , ALBAIGES, J. 1990.

Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. *Environ. Sci. and Technol.*, 24, 357-363.

GROTH-NARD, C., ROBERT, J.M., 1993.

Les lipides des diatomée. *Diatom. Res.*, 8 (2), 281-308.

HAGEN, W., KATTNER, G., GRAEVE, M., 1993.

Calanoides acutus and *Calanus propinquus* Antarctic copepods with different lipid storage modes via wax esters or triacylglycerols. *Mar. Ecol.Prog. Ser.*, 97, 135-142.

HARVEY, R.H., EGLINTON, G., O'HARA, S.C.M., CORNER, E.D., 1987.

Biotransformation and assimilation of dietary lipids by *Calanus* feeding on a dinoflagellate. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 51, 3031-3040.

HARWOOD, J.L., 1988.

Fatty acid Metabolism. *Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39, 101-138.

HAYES, M.O., 1975.

Morphology of sand accumulation in estuaries : an introduction to the symposium. In : Estuarine Research, (Cronin, L.E., Ed), Vol. II. Academic Press, New York, 3-22.

HEDGES, J., PARKER, P.L., 1976.

Land-derived organic matter in surface sediments from the Gulf of Mexico. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 40, 1019-1029.

HEINLE, D.R., FLEMER, D.A., 1975.

Carbon requirements of a population of the estuarine copepods *Eurytemora affinis*. *Mar. Biol.*, 31, 235-247.

HEINLE, D.R., HARRIS, R.P., USTACH, J.F., FLEMER, D.A., 1977.

Detritus as food for estuarine copepods, *Mar. Biol.*, 40, 341-353.

HENNION, M.C., THIEBLEMONT, J.C., ROSSET, R., SCRIBE, P., MARTY, J.C., SALIOT, A., 1983.

Rapid semi preparative class preparation of organic compound from marine lipid extracts by high-performance lipid chromatography and subsequent quantitative analysis by gas chromatography. *J. Chromatogr.*, 280, 351-362.

HUANG, W.Y., MEINSCHEN, W.G., 1976.

Sterols as source indicators of organic materials in sediments, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 40, 323-330.

IATRIDES, M.C., ARTAUD, J., VICENTE, N., 1983.

Composition en stérols des végétaux marins méditerranéens. *Oceanol. Acta*, 6, 73-77.

JOHNS, R.B., NICHOLS, P.D., PERRY, G.J. 1979.

Fatty acid composition of ten marine algae from Australian waters. *Phytochemistry*, 18, 799-802.

KANAZAWA, A., YOSHIOKA, M., TESHIMA, S-I., 1971.

The occurrence of brassicasterol in the diatoms, *Cyclotella nana* and *Nitzschia closterium*, *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish*, 37 (9), 899-903.

KANAZAWA, A., TESHIMA, S-I, ONO, K., 1979.

Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity of bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 63B, 295-298.

KATES, M., VOLCANI, B.E., 1966.

Lipid components of diatoms. *Biochim. Biophys. Acta*, 116, 264-278.

KATTNER, G., KRAUSE, M., TRAHMS, J., 1981.

Lipid composition of some typical North sea copepods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 4, 69-74.

KERGER, B.D., NICHOLS, P.D., ANTWRORTH, C.P., SAND, W., BOCK, E., COX, J.C., LANGWORTHY, T.A., WHITE, D.C., 1986.

Signature fatty acids in the polar lipids of acid-producing *Thiobacillus* spp. : methoxy, cyclopropyl, alpha-hydroxy-cyclopropyl and branched and normal monoenoic fatty acid. *FEMS Microbial. Ecol.*, 38, 67-77.

KETCHUM, B.H., 1951.

The flushing of tidal estuaries. *Sewage Ind. Waste*, 23, 198-209.

KOLLATUKUDY P. E., WALTON T. J., 1972.

The biochemistry of plant cuticular lipids. *Prog. Chem. fats Other Lipids*, 13, 121-175.

KOLLATUKUDY, P.E., WALTON, T.J., 1973.

The biochemistry of plant cuticular lipids. *Prog. Chem. Fats and Other Lipids* (Holman, R.T., Ed), *Pergamon Press, Oxford*, 3, 119-175.

KOMAGATA, K., SUZUKI, K.I, 1987.

Lipids and cell wall analysis in bacterial systematics. *Methods Microbiol.*, 19, 161-207.

LAANE, R. W. 1982.

Chemical characteristics of the organic matter in the waterphase of the Ems-Dollart estuary. *Thèse Doct., University of Groningen*, No. 6.

LAFITE, R., DUPONT, J.P., MEYER, R., HUAULT, M.F., 1995.

Campagnes SEAV et PRESEAV Octobre-Novembre 1993. *Rapport d'étude, Univ. Rouen et Caen*, 99 p.

LAUREILLARD, J., MEJANELLE, L., SALIOT, A., 1990.

Les acides gras utilisés comme biomarqueurs : acides totaux et classes de lipides. *Océanis*, 16 (5), 383-389.

LEE, R.F., NEVENZEL, J.C., PAFFENHOFFER, G.A., 1971.

Importance of wax esters and other lipids in the marine food chain : phytoplankton and copepods. *Mar. Biol.*, 9, 99-108.

LE FEVRE-LEHOERFF, G., BRYLINSKI, J.M., CASTEL, J., 1997.

Le zooplancton. In : Les biocénoses marines et littorales Françaises des côtes Atlantique, Manche et Mer du Nord ; Synthèse, Menaces et Perspectives, (Dauvin, J.C., Ed), Muséum d'Histoire naturelle, Paris, 33-44.

LENZ, J., 1992.

Microbial loop, microbial food web and classical food chain : their significance in Pelagic marine ecosystems. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 37, 265-278.

LORENZEN, C. J. 1967.

Determination of chlorophyll and pheopigments : spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12, 343-346.

MANTOURA R. F. C. , WOODWARD, E. M. S. 1983.

Conservative behaviour of riverine dissolved organic carbon in the Severn Estuary : chemical and geochemical implications. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47, 1293-1309.

MARCHAND, J., 1981.

Observations sur l'écologie de *Crangon crangon* (Linné) et *Palaemon longirostris* H. Milne Edwards (Crustacea, Decapoda, Natantia) Estuaire interne de la Loire (France). *Vie et Milieu*, 31, 83-92.

MARTY, Y., DELAUNAY, F., MOAL, J., SAMAIN, J.F., 1992.

Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 163, 221-234.

MATSUDA, H., KOYAMA, T., 1977.

Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments. I. Identification and distribution of fatty acids in recent sediment from a fresh water lake. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41, 777-783.

METCALFE L. D. , SCHMITZ, A. A. 1961.

The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analyt. chem.*, 33, 363-364.

METCALFE L. D., SCHMITZ A.A., PELKA, J.R., 1966.

The rapid preparation of fatty acid from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38, 514-515.

MEYBECK, M., CAUWET, G., DESSERY, S., SOMVILLE, M., GOULEAU, D. , BILLEN, G., 1988.

Nutrients (Organic C, P, N, Si) in the eutrophic river Loire, (France) and its estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 27, 595-624.

MILLER, J.D.A., 1962.

Fats and steroids, In : Physiology and Biochemistry of Algae, (Lewin, R.A., Ed), Academic Press, New York and London, 357-371.

MOAL, J., SAMAIN, J.F., LE COZ, J.F., DANIEL, J.Y., 1985.

Proteines, glucides, lipides particuliers. Aspects méthodologiques. *Océanis*, 11, 487-502.

MOUNY, P., DAUVIN, J.C., 1995.

Les communautés mésozooplanctonique et hyperbentique de l'estuaire de la Seine. Rapport scientifique Seine-Aval, FIN-IV, thème édifices biologiques, 47-75.

MOUNY, P., WANG, Z., DAUVIN, J.C., 1996

Premières données sur la structure spatio-temporelle du mésozooplancton et du suprabenthos de l'estuaire de Seine, *J. Rech. Océanographique*, 21 (3), 109-117.

MOUNY, P., 1998.

Structure spatio-temporelle du zooplancton et du suprabenthos de l'estuaire de la Seine. Dynamique et rôle des principales espèces dans la chaîne trophique pélagique. *Thèse Univ. PARIS, France*, 256 p.

NAPOLINO, G.E., 1998.

Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. In : Lipids in Freshwater Ecosystems (Arts, M.T., Wainman, B.C., Eds), Springer Verlag, New York, 21-44.

NICHOLS, P.D., VOLKMAN, J.K., JOHNS, R.B., 1983.

Sterols and fatty acids of the marine unicellular alga, FCRG 51. *Phytochemistry*, 22 (6), 1447-1452.

OLSEN, Y., 1998.

Lipids and essential fatty acids in aquatic food webs : what can freshwater ecologists learn from mariculture ? In : *Lipids in Freshwater Ecosystems* (Arts, M.T., Wainman, B.C., Eds), Springer Verlag, New York, 161-202.

ORCUTT, D.M., PATTERSON, G.W., 1974.

Effect of light intensity upon lipid composition of *Nitzschia closterium* (*Cylindrotheca fusiformis*). *Lipids*, 9, 12, 1000-1003.

ORCUTT, D.M., PATTERSON, G.W., 1975.

Sterol, fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically defined media. *Comp. Biochem. Physiol.*, 50B, 579-583.

OUDDANE, B., 1990.

Comportement des éléments majeurs et mineurs dans un milieu soumis à des gradients physico-chimiques marqués : cas de l'estuaire de la Seine. *Thèse Univ. Lille, France*, 227 p.

PARKES R. J., TAYLOR J. 1983.

The relationship between fatty acid distributions and bacterial respiratory types in contemporary marine sediments. *Estuar., Coast. and Shelf Sc.*, 16, 173-189.

PARRISH, C.C., 1998

Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples. In : *Lipids in Freshwater Ecosystems* (Arts, M.T., Wainman, B.C., Eds), Springer Verlag, New York, 4-20.

PARSONS, T.R., STEPHEN, K., STRICKLAND, J.D.H., 1961.

On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 18, 1001-1016.

PERILLO, G.M.E., 1995.

Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. *Geomorphology and sedimentology. Developments in sedimentology* (G.M.E. Perillo, Ed.), Elsevier Sciences B.V., 2, 17-47.

PERRY G. J., VOLKMAN J. F., JOHNS R. B., BAVOR H. J. JR., 1979.

Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 43, 1715-1725.

PETERSON, B.J., FRY, B., 1987.

Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev. Ecol. Syst.*, 18, 193-320.

PETERSON, B., FRY, B., HULLAR, M., SAUPE, S., WRIGHT, R., 1994.

The distribution and stable carbon isotopic composition of dissolved organic carbon in estuaries. *Estuaries*, 17, 111-121.

PIMM, S.L., LAWTON, J.H., COHEN, J.E., 1991.

Food web patterns and their consequences. *Nature*, 350, 669-674.

POHL P. 1982.

Lipids and fatty acids of microalgae. *CRC handbook of biosolar resources*, 1, 383-404.

PRAHL, F. G., EGLINTON, G., CORNER, E.D.S., O'HARA, S.C.M., FORSBERG, T.E.V., 1984.

Changes in plant lipids during passage through the guts of *Calanus*. *J. Mar. Biol. ASS. U.K.*, 64, 317-334.

PRAHL, F.G., SMALL, L.F., EVERSMEYER, B., 1997.

Biogeochemical characterization of suspended particule matter in the Columbia river estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 160, 173-184.

PRITCHARD, D.W., 1952.

Salinity distribution and circulation in the Chesapeake Bay estuarine system. *J. Mar. Res.*, 11, 106-123.

PRITCHARD, D.W., 1955.

Estuarine circulation patterns. *Proc. Amer. Soc. Civil engin*, 81, 1-11.

PRITCHARD, D.W., 1967.

What is an estuary : physical viewpoint. In Lauff, G.H. (Ed.), *Estuaries*. Arner Assoc. Adv. Sci, Washington, D.C. Pub. 83, 3-5.

QUEMENEUR, M. 1992

Devenir des acides gras et des stérols issus des effluents urbains après leur rejet dans les environnement littoraux. *Thèse Université de Bretagne Occidentale, Brest*, 231 p.

QUEMENEUR, M., MARTY, Y., 1994.

Fatty acids and sterols in domestic wastewaters. *Water Res.*, 28, 1217-1226.

RELEXANS, J. C., MEYBECK, M., BILLEN, G., BRUGEAILLE, M., ETCHEBER, H. , SOMVILLE, M. 1988.

Algal and microbial processes involved in particulate organic matter dynamics in the Loire estuary. *Estuar., Coast. Shelf Sci.*, 27, 625-644.

REMANE, A., 1934.

Die brackwasserfauna. *Verb. Deutsch. Zool. Ges.*, 36, 34-74.

RODDIE, B.D., LEAKEY, R.J.G., BERRY, A.J., 1984.

Salinity-temperature tolerance and osmoregulation in *Eurytemora affinis* (Pope) (Copepoda : Calanoida) in relation to its distribution in the zooplankton of the upper reaches of the Forth estuary. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 79, 191-211.

SAKSHAUG, E., DEMERS, S., YENTSCH, C.M., 1987.

Thalassiosira oceanica and *T. pseudonana* : two different photoadaptational responses.
Mar. Ecol. Prog. Ser., 41, 275-282.

SALOT, A., LORRE, A., MARTY, J.C., SCRIBE, P., TRONCZYNSKY, J., MEYBECK, M., DESSERTY, S., MARCHAND, M., CAPRAIS, J.C., CAUWET, G., ETCHEBER, H., RELEXANS, J.C., EWALD, M., BERGER, P., BELIN, C., GOULEAU, D., BILLEN, G. , SOMVILLE, M.-GROUPE DE GEOCHIMIE ORGANIQUE DU GRECO I.C.O. 1984.

Biogéochimie de la matière organique en milieu estuarien: stratégies d'échantillonnage et de recherche élaborées en Loire, France. *Oceanologica Acta*, 7, 191-207.

SALOT, A., TRONCZYNSKI, J., SCRIBE, P. , LETOLLE, R. 1988.

The application of isotopic and biogeochemical markers to the study of the biochemistry of organic matter in a macrotidal estuary, The Loire, France. *Estuar, Coast. Shelf Sci.*, 27, 645-669.

SALOT, A., 1994

Biogéochimie organique marine. Notes de cours. *Océanis*, 20, 197 p.

SARGENT, J.R., WHITE, K.J 1981.

Lipids and Hydrocarbons in the Marine Food Web. In. Analysis of Marine Ecosystems, LONGHURST, A.R., *Academic Press*, 17, 491-533.

SARGENT, J.R., 1995.

Origins and functions of egg lipids : Nutritional implications. In : Broodstock Management and Egg and Larval Quality (Bromage, N.R., and R.J. Roberts, R.J., Eds) Blackwell Science : Oxford, 353-372.

SCHNACK, S.B., SMETACEK, V., BODUNGEN, B.V., STEGMANN, P., 1985.

Utilization of phytoplankton by copepods in Antarctic waters during spring. In : Marine Biology of Polar Regions and Effects of Stress on Marine Organisms (Gray, J.S., Christiansen, M.W., Eds), John Wiley & Sons Ltd, 65-81.

SCRIBE, P., FILLAUX, J., LAUREILLARD, J., DENANT, V. , SALIOT, A. 1991.

Fatty acids as biomarkers of planktonic inputs in the stratified estuary of the Krka river, Adriatic Sea: relationship with pigments. *Mar. Chem.*, 32, 299-312.

SEINE, 1998.

Etat d'avancement des travaux du programme coordonné de recherche sur l'estuaire de la seine. Rapport final de synthèse par thème, rapport 1997/FIN-0, 78 p.

SHIFRIN, N. S., CHISHOLM, S.W., 1981

Phytoplankton lipids : interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. *J. Phycol.*, 17, 374-384.

SHOLKOVITZ, E.R., BOYLE, E.A., PRICE, N.B., 1978.

The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth Sc. Letters*, 40, 130-136.

SICKO-GOAD, L., SIMMONS, M.L., LAZINSKY, D., HALL, J., 1988.

Effect of light cycle on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. *J. Phycol.*, 24, 1-7

SMALL, L. F. , MORGAN, S. R. 1994.

Phytoplankton attributes in the turbidity maximum of the Columbia River Estuary, USA. In : Changes in Fluxes in Estuaries: implications from Sciences to Management, (Dyer, K.R., and Orth, R.J., Eds). *Olsen and Olsen, Fredensberg, Danmark* , 466-472.

SOLTAMPOUR-GARGARI, A., WELLERSHAUS, S., 1985.

Eurytemora affinis. One year study of abundance and environmental factors. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.*, 20, 183-198.

SORBE, J.C., 1981.

La macrofaune vagile de l'estuaire de la Gironde distribution et migration des espèces modes de reproduction, régimes alimentaires. *Océanis*, 6 (6), 579-592.

SOUDANT, P., MOAL, J., MARTY, Y., SAMAIN, J.F., 1996a.

Impact of the quality of dietary fatty acids on metabolism and the composition of polar lipid classes in female gonads of *Pecten maximus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 205, 149-163.

SOUDANT, P., MARTY, Y., MOAL, J., SAMAIN, J.F., 1996b.

Fatty acids and egg quality in great scallop. *Aquaculture International*, 4, 191-200.

SOUDANT, P., LE COZ, J.R., MARTY, Y., MOAL, J., ROBERT, R., SAMAIN, J.F., 1998.

Incorporation of microalgae sterols by scallop *Pecten maximus* (L.) larvae. *Comparative Biochem. and physiol. A. Molecular & integrative physiology.*, 119, 2, 451-457.

SUKENIK, A., CARMELI, Y., 1990

Lipid synthesis and fatty acid composition in *Nannochloropsis* SP. (Eustigmatophyceae) grown in a light-dark cycle. *Phycol.*, 26, 463-469.

THOUMELIN G., 1988.

Décomposition de la matière organique dans les eaux côtières : Etude en laboratoire de la biodégradation d'effluents urbains. Thèse de doctorat, *Université de Bretagne Occidentale*, 181 p.

THOUMELIN, G., BODINEAU, L., WARTEL, M., 1997.

Origin and transport of organic matter across the Seine estuary: Fatty acid and sterol variations. *Mar. Chem.*, 58, 59-71.

THOUMELIN, G., BEGHIN, V., BODINEAU, L., WARTEL, M., DAUVIN, J.C., 1998.

Etude du régime alimentaire du copépode *Eurytemora affinis* et de la crevette *Palaemon longirostris* dans l'estuaire de la Seine; utilisation des marqueurs biochimiques (acides gras et stérols), Communication orale, Marine Lipids, novembre 19-20, Brest, France.

TRANCHANT, J., ARPINO, P., PREVOT, A., SERPINET, J., VERGNOL, A., WITTIER, P., 1995.

Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, 4^{ème} édition. Edition Masson, PARIS. 700 p.

VENKATESAN, M.I., KAPLAN, I.R., 1987.

The lipid geochemistry of antarctic marine sediments : bransfield strait. *Mar. Chem.*, 21, 347-375.

VERON, B., BILLARD, C., DAUGUET, J. C., HARTMANN, M. A., 1996.

Sterol composition of *Phaeodactylum tricornutum* as influenced by growth temperature and light spectral quality. *Lipids*, 31, 9, 989-994.

VOLKMAN J. K., JOHNS R. B., 1977.

The geochemical significance of positional isomers of unsaturated acids from an intertidal zone sediment. *Nature*, 267, 693-694.

VOLKMAN, J.K., EGLINTON, G., CORNER, E.D.S., 1980a.

Sterols and fatty acids of the marine diatom *Biddulphia sinensis*. *Phytochemistry*, 19, 1809-1813.

VOLKMAN J. K., JOHNS R. B., GILLAN F. T., PERRY G. J., 1980b.

Microbial lipids of an intertidal sediment - I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 44, 1133-1143.

VOLKMAN, J.K., GILLAN, F.T., JOHNS, R.B., EGLINTON, G., 1981.

Sources of neutral lipids in a temperate intertidal sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45, 1817-1828.

VOLKMAN J. K., 1986.

A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.*, 9 (2), 83-99.

VOLKMAN J. K., JEFFREY S.W., NICHOLS P. D., ROGERS G. I., GARLAND C. D.,
1989.

Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 128, 219-240.

WELLS, J.T., 1995.

Tide-dominated estuaries and tidal rivers. *Geomorphology and sedimentology. Developments in sedimentology* (G.M.E. Perillo, Ed.), Elsevier Sciences B.V., 53 (6), 179-205.

