

Distribution verticale des algues et de l'activité fixatrice d'azote dans un tapis algal

Pierre Adrien REYNAUD
Pierre Armand ROGER
Microbiologistes O.R.S.T.O.M.
B.P. 1386, Dakar - Sénégal

Résumé

La distribution verticale des algues dans un tapis algal se développant dans un sol sableux engorgé de bas de dune a été étudiée sur des carottes découpées en sections après fixation au silicogel.

Sur chaque section la composition qualitative et quantitative de la flore algale et l'activité fixatrice d'azote (ARA) ont été déterminées.

L'analyse de la distribution verticale des espèces algales indique trois types de comportements vis-à-vis des hautes intensités lumineuses : héliophile, neutre ou sciaphile.

L'ARA et la biomasse algale fixatrice sont en étroite corrélation ; la valeur relative de cette dernière est plus forte dans le sol que dans le tapis algal. La persistance d'une ARA algale dans certains sols nus, exposés à de fortes intensités lumineuses normalement inhibitrices de cette activité, peut s'expliquer par la présence d'un couvert végétal d'algues eucaryotes qui protège l'activité fixatrice des Cyanobactéries.

Mots-clés : Cyanobactéries - ARA - Tapis algal.

Abstract

VERTICAL DISTRIBUTION OF ALGAE AND OF ACETYLENE REDUCING ACTIVITY IN AN ALGAL MAT

Vertical distribution of algae in a permanent algal mat on a waterlogged sandy soil was studied. Cores including the algal mat and the first centimeter of soil were cut into sections, after fixation with silicogel.

Qualitative and quantitative composition of algal biomass and acetylene reducing activity (ARA) were measured on each section.

Analysis of vertical distribution of the algal species indicated three types of light level dependance : high, neutral or low.

ARA and nitrogen-fixing algal biomass were strongly correlated, the relative value of the latter was higher in the soil than in the algal mat. Maintenance of an algal ARA in some bare soils, after exposure to inhibitory high light intensities, could result from B.G.A. present below the soil surface and from the protective cover of other algae.

Key words : Blue-green algae - ARA - Algal mat.

1. INTRODUCTION

Les hautes intensités lumineuses ont une action inhibitrice sur les mécanismes photosynthétiques (STEEMANN NIELSEN, 1962) qui se manifeste également sur l'activité fixatrice des microorganismes photosynthétiques fixateurs d'azote (FOGG, 1974, REYNAUD et ROGER, 1979).

Cette inhibition agit sur la répartition spatiale des Cyanobactéries. Dans les milieux terrestres, elles se développent préférentiellement dans les zones ombragées ou à quelques millimètres au-dessous de la surface du sol (STEWART *et al.*, 1978) ; des phénomènes analogues sont observés en milieu aquatique (HORNE et FOGG, 1970).

Une précédente étude (REYNAUD et ROGER, 1980) effectuée dans la région du Cap Vert (Sénégal) sur un tapis algal permanent se développant sur un sol engorgé de bas de dune, a mis en évidence la persistance d'une activité fixatrice d'azote dans le tapis algal exposé à des intensités lumineuses inhibitrices pour les Cyanobactéries. L'observation directe de ce tapis a montré l'existence de différentes couches avec généralement une dominance des Chlorophycées filamenteuses en surface et des Cyanobactéries en profondeur.

La présente étude se propose de préciser cette observation en étudiant la répartition verticale des algues et de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) dans le tapis algal et les premiers centimètres du sol.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Sept carottes englobant le tapis algal et l'horizon supérieur du sol ont été prélevées dans le biotope et fixées *in situ* au moyen de silicogel. Six des carottes ont été découpées en sections de 0,5 cm d'épaisseur sur lesquelles l'activité réductrice d'acétylène (ARA) a été mesurée à la lumière (1200 lux) puis à l'obscurité, après avoir privé les échantillons de lumière pendant 12 heures.

Le dernier échantillon a été découpé en sections de 2 mm d'épaisseur sur lesquelles nous avons mesuré l'ARA, évalué les principaux constituants de la biomasse algale et dénombré les bactéries photosynthétiques.

2.2. ECHANTILLONNAGE

Des tubes de verre de 2 cm de diamètre et de 25 cm de hauteur sont enfoncés précautionneusement dans le tapis algal et les dix premiers centimètres du sol sableux. Les tubes restant en place, la masse algale est alors fixée en versant lentement dans le tube, au moyen d'une seringue, le mélange extemporané d'une solution de K_2HPO_4 0,020 M. et d'acide silicique obtenu par passage d'une solution à 220 ml/l de silicate de sodium ($d = 1,33$) sur résine cationique forte.

Les proportions des deux solutions doivent être déterminées pour chaque type de sol afin d'obtenir dans les tubes de prélèvement un pH au moins égal à 7.

Dans ces conditions la prise en masse du silicogel se fait en quelques minutes. Une fois la masse algale immobilisée, les tubes sont retirés du sol, bouchés et

placés à l'obscurité.

Ce mode de fixation permet un blocage des organismes dans la position où ils se trouvent au moment du prélèvement, à l'exception de certaines formes mobiles (*Oscillatoria*) ; pour cette raison le découpage des carottes en sections a toujours été effectué moins de quatre heures après le prélèvement.

2.3. MESURE DE L'ARA

Les échantillons sont placés dans des fioles de 10 ml à 20° C, sous un mélange air-acétylène (9/1 V/V). Les prélèvements de l'atmosphère du flacon sont effectués après 30 mn et 60 mn d'incubation et analysés par chromatographie en phase gazeuse.

L'activité nitrogénasique de chaque section est calculée en mesurant l'activité réductrice d'acétylène (ARA) à l'aide d'un chromatographe à ionisation de flamme (Varian A 1200 avec colonne de 150 × 0,3 cm de Porapak K 100-200 mesh). La température du four est 60° C, celle de l'injecteur 105° C, et celle du détecteur de 180° C. Les débits des gaz sont : 30 ml.mn⁻¹ pour N₂, 30 ml.mn⁻¹ pour H₂ et 300 ml.mn⁻¹ pour l'air comprimé.

2.4. ESTIMATION DE LA COMPOSITION DE LA BIOMASSE PHOTOSYNTHÉTIQUE

Les différentes espèces d'algues ont été dénombrées sur milieux sélectifs permettant de différencier les algues eucaryotes, les algues procaryotes et les formes fixatrices d'azote (REYNAUD et ROGER, 1977).

Pour chaque milieu on inocule 3 boîtes de Pétri par dilution (10⁻³ à 10⁻⁶). Les boîtes sont incubées dans une étuve à 30° C sous une intensité lumineuse constante de 500 lux obtenue avec des lampes fluorescentes type lumière du jour. Après 21 jours d'incubation les colonies sont comptées au microscope stéréoscopique (Wild M5).

Les résultats des numérations de chaque espèce ou taxon ont été multipliés par le volume moyen d'une unité de comptage (cellule, filament ou colonie suivant l'espèce) déterminé sur des échantillons frais et homogénéisés.

Bien que très imparfaite cette méthode permet cependant une meilleure évaluation de la biomasse algale qu'une simple numération en microscopie directe. (ROGER et REYNAUD, 1979).

Simultanément nous avons dénombré les bactéries photosynthétiques fixatrices de N₂. La nature des colonies a été vérifiée par repiquage sur le milieu sélectif de REISS-HUSSON *et coll.* (1971).

3. RÉSULTATS

3.1. ARA

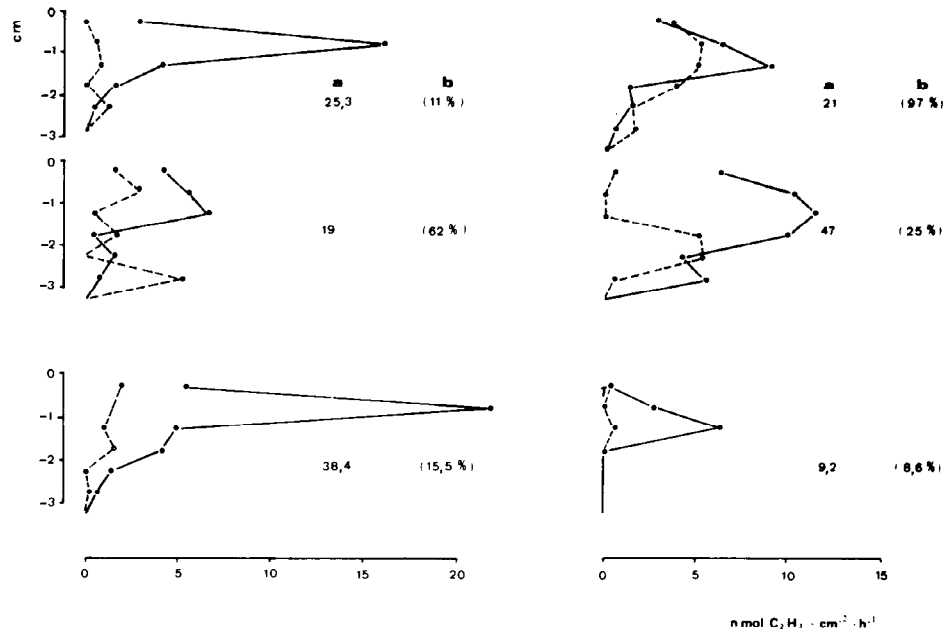


FIG. 1. - Variations verticales de l'ARA mesurée à la lumière (● — ●) et à l'obscurité (● - - ●) ; (a) : activité totale à la lumière (nmol C₂H₄.cm⁻².h⁻²), (b) : activité totale à l'obscurité exprimée en % de l'activité totale à la lumière.

— Les mesures d'ARA effectuées sur six carottes découpées en sections de 5 mm (fig. 1) montrent que l'activité nitrogénasique maximale n'est jamais située dans le premier demi-centimètre, suivant les cas elle se trouve dans le 2^e ou le 3^e demi-centimètre.

L'ARA mesurée à l'obscurité est très variable aussi bien en valeur absolue (valeurs extrêmes respectivement égales à 0,8 et 20,4 nmol C₂.H₄.cm⁻².h⁻¹) qu'en valeur relative (valeurs extrêmes respectivement égales à 9 et 97 % de l'activité mesurée à la lumière).

On sait que les Cyanobactéries peuvent fixer l'azote à l'obscurité et en hétérotrophie (FAY, 1976) et que la fixation de l'azote à l'obscurité par des masses algales décroît au cours de la période obscure et devient nulle après 24 h (JONES, 1977). Les résultats obtenus ne permettent pas de préciser la part des Cyanobactéries dans la fixation de N₂ à l'obscurité par contre ils mettent en évidence une activité fixatrice nocturne non négligeable dans le biotope étudié.

Bien que le tapis algal présente une grande homogénéité dans son aspect extérieur, les mesures indiquent une variabilité importante de l'intensité et de la répartition verticale de l'ARA dans ce type de communauté algale ; on constate également que le rapport des valeurs d'ARA mesurées à la lumière et à l'obscurité varie dans de larges limites. Dans quatre des échantillons, la forme des courbes d'activité

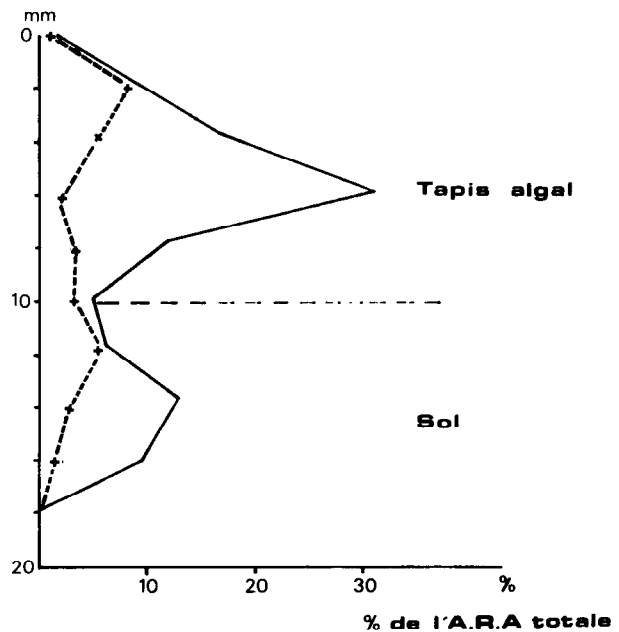


FIG. 2. - Variations verticales de l'ARA relative mesurée à la lumière (---) et à l'obscurité (+---+). L'activité totale est 2 nmol C₂H₄.cm⁻².h⁻¹.

montre l'existence d'un premier pic dans le tapis algal et d'un second, plus faible, dans le premier centimètre de sable.

— L'étude des variations verticales de l'ARA dans une carotte découpée en sections de 2 mm (fig. 2) montre l'existence de deux maxima, l'un dans le tapis (- 6 mm) et l'autre dans le sol (- 14 mm). L'ARA mesurée dans le sol représente environ 1/3 de l'activité totale. L'ARA mesurée à l'obscurité représente 34 % de l'activité à la lumière ; les 2 pics sont décalés vers le haut par rapport à ceux mesurés à la lumière.

3.2. COMPOSITION DE LA BIOMASSE ALGALE

Les résultats (fig. 3 et 4) sont présentés sous forme de diagrammes indiquant le pourcentage de la biomasse de l'algue ou du groupe d'algues (taxon) correspondant à chaque section.

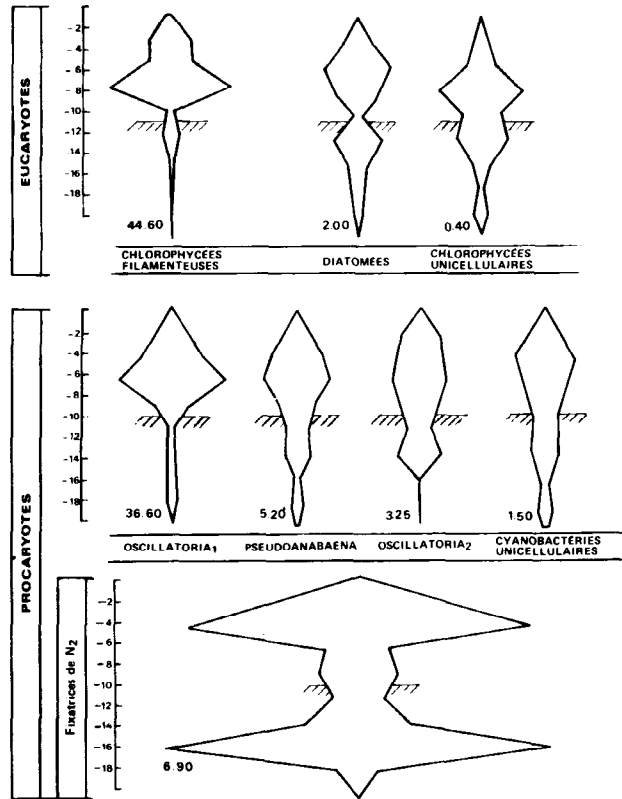


FIG. 3. - Composition de la biomasse algale totale : au bas à gauche de chaque diagramme est mentionnée la biomasse relative du taxon en % de la biomasse totale.

Trois types de distribution verticale peuvent être distingués :

- en forme de fuseau : Diatomées, Chlorophycées unicellulaires, Cyanobactéries unicellulaires, *Anabaena* spp., *Oscillatoria* 2.
- en forme de toupie avec un maximum dans le tapis algal : Chlorophycées filamenteuses, *Oscillatoria* 1, *Calothrix* spp., *Nostoc* 1.

— en forme de toupie avec un maximum dans le sol : *Westiellopsis* spp., *Nostoc* 2.

La valeur relativement basse de la biomasse dans les 2 premiers millimètres, s'explique par la présence à la surface du tapis algal d'une grande quantité de Chlorophycées filamenteuses décolorées après photooxydation des pigments (bleaching) (ROGER et REYNAUD, 1977).

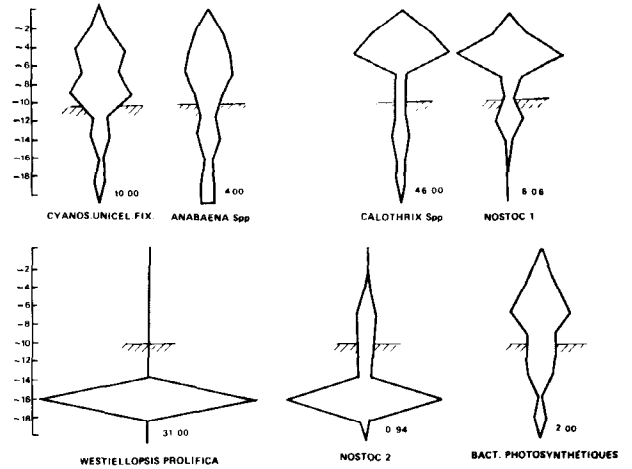


FIG. 4. - Composition de la biomasse photosynthétique fixatrice de N₂ ; en bas à droite de chaque diagramme est mentionnée la biomasse relative du taxon en % de la biomasse fixatrice.

Les valeurs absolues et relatives de la biomasse totale et de la biomasse fixatrice sont présentées tableau I et figure 5. La biomasse algale fixatrice correspond à 7 % de la biomasse totale. Les bactéries photosynthétiques représentent à peu près 2 % de la biomasse des Cyanobactéries fixatrices. Leur dia-

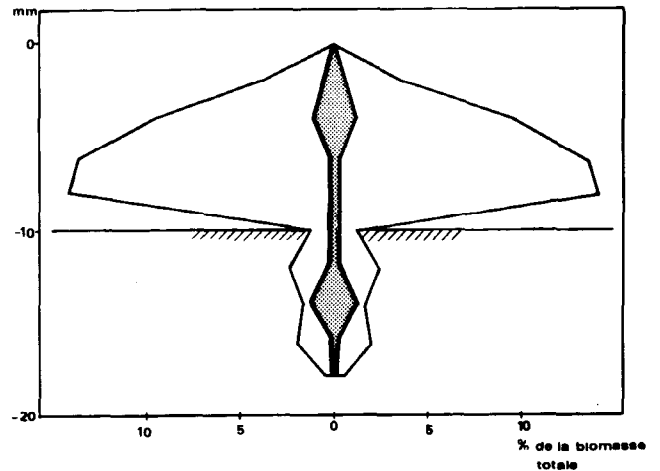


FIG. 5. - Distribution verticale de la biomasse totale (blanc) et de la biomasse fixatrice de N₂ (grise) en fonction de la profondeur.

TABLEAU I

Valeurs absolues et relatives de la biomasse algale totale et de la biomasse algale fixatrice de N₂ aux différentes profondeurs (10¹⁰ μ³. cm⁻² correspondent à 1 tonne.ha⁻¹, poids frais)

Profondeur en mm	Biomasse totale		Biomasse fixatrice de N ₂	
	μ ³ .cm ⁻²	% du total	μ ³ .cm ⁻²	% du total
- 02	1,5 . 10 ⁷	0,08	2,15 . 10 ⁶	0,2
- 04	1,5 . 10 ⁹	8,28	1,8 . 10 ⁸	13,7
- 06	3,7 . 10 ⁹	19,9	3,5 . 10 ⁸	27,2
- 08	5,0 . 10 ⁹	27,15	6,6 . 10 ⁷	5,1
- 10	5,3 . 10 ⁹	28,5	8,1 . 10 ⁷	6,3
- 12	4,7 . 10 ⁸	2,5	5,4 . 10 ⁷	4,2
- 14	8,9 . 10 ⁸	4,8	1,0 . 10 ⁸	10
- 16	6,4 . 10 ⁸	3,4	4,13 . 10 ⁸	32
- 18	7,3 . 10 ⁸	3,9	4,6 . 10 ⁷	2,8
- 20	1,8 . 10 ⁸	1,0	4,7 . 10 ⁶	0,4
Total	1,86 . 10 ¹⁰	100	1,3 . 10 ⁹	100
% de la biomasse totale		100		6,9

gramme de répartition verticale est en forme de fuseau avec un maximum dans le tapis algal (fig. 4).

4. DISCUSSION

4.1. PÉNÉTRATION DE LA LUMIÈRE SOLAIRE DANS LE TAPIS ALGAL ET LE SOL

La pénétration de la lumière peut être mise en évidence à l'intérieur du tapis algal et du sol par l'activité photosynthétique et donc par la mesure du Eh à différentes profondeurs.

TABLEAU II

Mesure du EH à différentes profondeurs dans le sol ; A : zone recouverte d'un tapis algal, B : zone sans algues.

A EH mv		B EH mv	
-20	Algues	Eau	-50
-50	Sol		-110
-120	-1 cm		-350
-340	-2		-380
	-3		

Le tableau II représente des mesures de Eh faites au niveau du tapis algal et à un emplacement sans algues : les résultats indiquent une influence très nette de la photosynthèse algale dans le premier centimètre de sol. Dans un biotope similaire TCHAN et WITHEHOUSE (1953) ont montré que la lumière solaire pouvait pénétrer à une profondeur de 1,5 cm.

4.2. INTENSITÉ LUMINEUSE ET DISTRIBUTION VERTICALE DES ALGUES

Si aux faibles intensités lumineuses la croissance de tous les groupes algaux est en corrélation avec ce facteur, l'intensité lumineuse optimale et les réactions aux fortes intensités dépendent de l'espèce et du groupe taxonomique (BROWN et RICHARDSON, 1968).

En considérant les besoins en lumière des algues eucaryotes WHITFORD (1960) distingue trois groupes :
— les espèces indifférentes (Diatomées et Crysoptocées)

— les espèces héliophiles (Chlorophycées)

— les espèces sciaphiles (Rhodophycées).

Les intensités lumineuses optimales pour la croissance des Cyanobactéries sont inférieures à celles nécessaires pour les Chlorophycées et les Diatomées et au-dessus de cette valeur optimale un effet inhibiteur est observé (ALLEN, 1955-1956 ; FOGG et THAN-TUN, 1958 ; TAHA et EL REFAI, 1963 ; BROWN et RICHARDSON, 1968, REYNAUD et ROGER, 1979).

La répartition verticale des différents taxons (fig. 3 et 4) peut être interprétée en fonction de l'intensité lumineuse reçue.

— Les distributions en fuseau seraient liées à une certaine indifférence vis-à-vis de l'intensité lumineuse.

— Les distributions en forme de toupie avec un maximum dans le tapis algal correspondraient aux espèces héliophiles et celles avec un maximum dans le sol aux espèces sciaphiles.

Les diagrammes obtenus pour les algues eucaryotes sont en accord avec la classification de Whitford. En ce qui concerne les Cyanobactéries on observe l'existence d'espèces sciaphiles, héliophiles et indifférentes.

Toutefois il convient de remarquer que des facteurs autre que le comportement vis-à-vis de la lumière peuvent également affecter la forme générale des diagrammes :

— Lorsqu'un taxon regroupe plusieurs espèces comme c'est le cas pour les Diatomées, les Chlorophycées unicellulaires ou les Cyanobactéries fixatrices de N_2 , le diagramme peut évidemment présenter plusieurs maxima.

— Les formes filamenteuses non mobiles (*Calothrix*, *Nostoc*, *Westiellopsis*) ont une localisation verticale plus rigoureuse que les formes mobiles (*Anabaena*, *Oscillatoria* 2, *Pseudanabaena*) ou que les formes unicellulaires qui sont facilement disséminées par l'eau de percolation.

4.3. ACTIVITÉ RÉDUCTRICE D'ACÉTYLÈNE

La faible biomasse des bactéries photosynthétiques (2 % des Cyanobactéries fixatrices) permet de penser que leur ARA est négligeable.

La biomasse algale fixatrice de N_2 constitue 6,9 % de la biomasse algale totale ; sa valeur relative est plus élevée dans le sol que dans le tapis algal (cf fig. 5).

Les distributions verticales de l'ARA (fig. 2) et de la biomasse fixatrice (fig. 3) concordent et présentent deux maxima :

L'un dans le tapis algal entre 4 et 6 mm ; zone où la Cyanobactérie fixatrice héliophile *Calothrix* sp.

représente le taxon le plus important de la biomasse fixatrice hétérocystée mais aussi où l'on note le développement important d'une *Oscillatoria* fixatrice d'azote en conditions microaérophiles (REYNAUD, en préparation).

L'autre dans le sol, au niveau - 14mm, correspondant à une zone où la Cyanobactérie fixatrice sciaphile *Westiellopsis* sp. est le taxon dominant de la biomasse algale.

5. CONCLUSION

L'analyse de la distribution verticale des différents taxons d'algues dans le biotope confirme l'existence de trois types de comportements vis-à-vis de la lumière, permettant de distinguer des formes héliophiles, indifférentes et sciaphiles. Des diagrammes de répartition correspondant à ces trois types ont été observés chez les Cyanobactéries fixatrices d'azote qui présentent toutefois un développement relatif plus important dans la partie inférieure du tapis algal.

L'étude des variations verticales de l'ARA dans le biotope montre une corrélation très satisfaisante entre cette dernière et la biomasse des Cyanobactéries fixatrices. L'activité fixatrice maximale n'est jamais à la surface du tapis algal mais en profondeur. Cette observation est à mettre en relation avec l'effet inhibiteur des hautes intensités lumineuses sur l'activité fixatrice d'azote des Cyanobactéries (REYNAUD et ROGER 1979) ; il apparaît que la stratification des espèces et le développement en profondeur des formes fixatrices d'azote constitue dans cet écosystème un mécanisme de protection contre les hautes intensités lumineuses caractéristiques du climat sahélien.

Ce mécanisme de protection permet la persistance dans le tapis algal d'une activité fixatrice importante en milieu de journée (REYNAUD et ROGER, 1980) sous des intensités lumineuses supérieures à 70 Klux dont l'effet inhibiteur pour des cultures unialgales et des blooms a été précédemment démontré (REYNAUD et ROGER 1979).

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'ORSTOM, le 17 octobre 1980.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN (M.B.), 1955. - Studies in nitrogen fixing blue-green algae part I. *Plt. Physiol.* 30 : 366-372.
- ALLEN (M.B.), 1956. - Photosynthetic nitrogen fixation by blue-green algae. *Sci. Mont. N.Y.* 83 (2) : 100-106.
- BROWN (E.T.), RICHARDSON (F.L.), 1968. - The effect of growth environment on the physiology of algae light intensity. *J. Phycol.*, 4 : 38-54.
- FAY (P.), 1976. - Factors influencing dark nitrogen fixation in a blue-green algae *Appl. & Environm. Microbiol.*, 31 (3) : 376-379.
- FOGG (G.E.), 1974. - Nitrogen fixation (by algae). *Bot. monogr.* 10 : 560-582.
- FOGG (G.E.), THAN-TUN, 1958. - Photochemical reduction of elementary nitrogen in the blue-green alga *Anabaena cylindrica*. *Biochem. Biophys. Acta.* 30 : 209.
- HORNE (A.J.), FOGG (G.E.), 1970. - Nitrogen fixation in some English lakes. *Proc. Roy. Soc. London*, 175 : 351-366.
- JONES (K.), 1977. - Acetylene reduction in the dark by mats of blue-green algae in subtropical grassland. *Ann. Bot.* 41 : 807-811.
- REISS-HUSSON (F.), KLERK (H. de), JOLCHINE (G.), JAU-NEAU (E.), KAMEN (M.D.), 1971. - Some effects of iron deficiency on *Rhodospseudomonas spheroides* strain Y. *Biochem. Biophys. Acta*, 234 : 73-82.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1977. - Milieux sélectifs pour la numération des algues eucaryotes, procaryotes et fixatrices d'azote. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 14 (3) : 421-428.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1979. - Les hautes intensités lumineuses, facteur limitant l'activité fixatrice de N₂ des Cyanobactéries. *C.R. Acad. Sci.* 288 D : 999-1002.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1980. - Variations saisonnières de la flore algale et de l'activité fixatrice d'azote dans un sol engorgé de bas de dune. *Rev. Ecol. Biol. Sol* (sous presse).
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), 1977. - La biomasse algale dans les rizières du Sénégal ; importance relative des Cyanophycées fixatrices de N₂. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 14 (4) : 519-530.
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), 1979. - Ecology of B.G.A. in rice fields ; in « Nitrogen and Rice », IRRI, Los Banos : 289-309.
- STEEMANN NIELSEN (E.), 1962. - Inactivation of the photochemical mechanisms in photosynthesis as a mean to protect the cells against too high light intensities. *Physiol. Plant.* 15 : 161-171.
- STEWART (W.D.P.), SAMPAIO (M.J.), ISICHEI (A.O.), SYLVESTER-BRADLEY (R.), 1978. - Nitrogen fixation by soil algae of temperate and tropical soils ; in « Basic Life Sciences Vol. 10 », Plenum Press : 41-63.
- TAHA (E.E.M.), EL REFAI (A.E.), 1963. - Physiological and Biochemical studies on nitrogen fixing blue-green algae part III. *Arch. Mikrobiol.* 44 : 356-365.
- TCHAN (Y.T.), WHITEHOUSE (J.A.), 1953. - Study of soil algae ; II the variation of the algal population in sandy soils - Linnean Soc. N.S.W. Proc. 78 : 160-170.
- WHITFORD (L.A.), 1960. - Ecological distribution of freshwater algae. In « the ecology of Algae » Pymatuning Symp 1959. (Edwards Bros publisher) : 2-10.