

## MÉTHODE D'EXTRACTION DES PIGMENTS DANS L'ÉTUDE DE LA VÉGÉTATION BENTHIQUE

par Ramon MARGALEF (Barcelone)

---

## MÉTHODE D'EXTRACTION DES PIGMENTS DANS L'ÉTUDE DE LA VÉGÉTATION BENTHIQUE

par Ramon MARGALEF (Barcelone)

---

### INTRODUCTION

La méthode de l'extraction suivie de valoration quantitative des pigments photosynthétiques s'est généralisée rapidement dans l'étude des populations de phytoplancton. Certes, il subsiste encore des points douteux, qui demandent un nouvel effort de recherche, tels : 1° La possibilité d'identification et de détermination quantitative des différents pigments ou ensembles de pigments à partir d'un spectre d'absorption composite ; 2° La signification des rapports entre les quantités de différents pigments du point de vue de la biomasse et de la productivité. Malgré tout, on est, en général, d'accord sur la qualité et la souplesse de cette méthode, qui non seulement donne une idée de la quantité totale de plancton, mais aussi de sa composition taxinomique et de son état physiologique, constituant ainsi un instrument de choix pour l'étude de la dynamique des populations.

L'application de la même méthode à l'étude des populations benthiques a été remarquablement tardive. On ne pourrait pas en expliquer la raison, puisque il n'y a pas des problèmes spéciaux et que les problèmes méthodologiques sont eux-mêmes simplifiés. Les premiers essais, d'après ce que je connais, furent faits dans la mer. FIGUERAS (1956) à Vigo, MOUL et MASON (1957) à Woods Hole ont fait des déterminations de pigments dans les sédiments meubles. Elles fournissent une très bonne estimation de la capacité de production des biotopes, par exemple, en mollusques comestibles; mais il faut compter avec la présence d'une large fraction de dérivés des chlorophylles et de caroténoïdes qui persistent longtemps dans le sédiment, hors des cellules vivantes. La détermination des pigments de communautés sur substrat uni ou rigide, a commencé probablement par l'étude des coraux constructeurs de récifs (ODUM et ODUM, 1955; BURKHOLDER et al., 1959; MARGALEF, 1959). J'ai réuni un certain nombre de déterminations de pigments d'échantillons de la végétation marine des rochers littoraux, la plupart inédites.

McCONNEL et SIGLER (1959) étudient la végétation d'un fleuve d'Utah et font application de la méthode de l'extraction des pigments. En juillet 1959, j'ai essayé la même méthode dans l'étude de la végétation benthique des eaux courantes et stagnantes du Parc national d'Aigües Tortes, en amont de Bohí, province de Lérida, entre 2 000 et 2 500 mètres d'altitude. L'expérience acquise est insuffisante pour traiter complètement le sujet. Je suis fermement convaincu que la méthode de l'extraction des pigments peut faire avancer considérablement la connaissance de la distribution et de la physiologie de la végétation benthique.

MÉTHODE. — D'abord quelques remarques méthodologiques. Voici le procédé suivi. Des petits morceaux de roche dont on désire étudier la végétation superficielle sont mis dans de l'acétone neutralisé, à 90 % de concentration. Le tout est immergé avec soin dans de l'eau chaude, de façon à ce que l'acétone entre en ébullition. L'ébullition ne doit pas durer plus d'une minute et demie. L'extraction à chaud a l'avantage de faire éclater les cellules, avec extraction plus rapide et plus complète des pigments; la solution obtenue est aussi plus stable, vraisemblablement par inactivation ou destruction de chlorophylases. L'extrait est refroidi, puis filtré et conservé dans le réfrigérateur à l'obscurité. Il tient ainsi pendant plusieurs semaines, sans perte notable. Le spectre d'absorption des extraits est obtenu entre 370 et 750  $\mu$  de longueur d'onde. Si l'absorption n'est pas négligeable à 750  $\mu$ , c'est indice de turbidité et il faut filtrer à nouveau l'extrait. Il est bon de rappeler qu'une concentration pratique est de l'ordre de 10 millilitres d'extrait pour 1 centimètre carré approximativement du substrat. Après extraction, la surface extraite est mesurée soigneusement.

RICHARDS et THOMPSON (1952) ont donné des expressions pour le calcul des concentrations de trois sortes de chlorophylles et deux groupes de caroténoïdes à partir des valeurs des densités optiques à 480, 510, 630, 645 et 665  $\mu$ . Ce procédé peut être bon pour le plancton marin, mais il est vraisemblable que la présence de Cyanophycées et d'une variété plus grande des autres groupes dans le benthos d'eau douce fournit un mélange plus compliqué des pigments et on ne saurait adopter sans critique la même méthode de calcul employée dans l'étude du plancton marin. Des nouvelles recherches sont nécessaires. Je me suis borné à comparer la totalité des spectres et certains des points qui me semblent particulièrement significatifs à 430 et 665  $\mu$ .

RÉSULTATS. — Comme il fallait le supposer, tous les spectres ont une allure comparable (voir aussi McCONNEL et SIGLER, 1959); mais on observe des différences d'ordre quantitatif et qualitatif.

Différences quantitatives. — Des extraits donnent une plus forte concentration générale de pigments par centimètre carré que des autres. Il faut remarquer que la plupart des échantillons furent pris dans des pierres couvertes de végétation microscopique peu appréciable à l'œil nu. L'expression de RICHARDS et THOMPSON pour le calcul de la chlorophylle *a*, donne la concentration maximum, de 0,37  $g/m^2$  pour une végétation d'*Hydrurus foetidus* dans de l'eau courante; une végétation visible de *Nostoc*, *Tolypothrix* et autres espèces, dans des lacs et des ruisseaux, fournit des valeurs de 4 à 50  $mg/m^2$ ; quand à la mince pellicule de végétation microscopique, les concentrations sont inférieures, de 2 à 6 milligrammes de chlorophylle *a* par mètre carré. Des lichens, aquatiques ou aériens ont donné de 1,3 à 1,5  $mg/m^2$ . La végétation du fleuve étudié par McCONNEL et SIGLER donnait une moyenne de 0,3  $g/m^2$ .

Il est intéressant de rappeler que les déterminations de la concentration de chlorophylle *a* dans des associations d'algues marines littorales oscillent autour d'une moyenne de 0,3  $g/m^2$  et qu'une valeur semblable a été obtenue pour les herbiers de *Thalassia*. Dans les coraux des récifs la concentration moyenne est à peu près 0,1  $g/m^2$  par surface de corail et presque 0,3  $g/m^2$  par surface effective. On observe ainsi une tendance vers une concentration comparable dans les plus diverses communautés aquatiques de fonds qui, peut-être, est en relation avec des conditions de production très généralisées. Il faut remarquer que la concentration de chlorophylle par unité de surface, dans le plancton, est bien plus petite.

Différences qualitatives. — Pour rendre comparables les différents spectres, on a multiplié les densités optiques de chacun par le facteur nécessaire pour faire dans tous  $D_{430} = 100$ . Quelques spectres sont très semblables, d'autres bien différents. Pour simplifier l'expression on a mis ensemble les spectres très rapprochés, représentés par leur moyenne (fig. 1). On y voit des régularités significatives, entre la végétation à croissance la plus active (*Hydrurus*) et la plus passive (lichens).

Dans l'étude du plancton marin j'ai employé un ~~biogramme~~ <sup>monogramme</sup> où sont portées les densités optiques à deux longueurs d'onde d'une solution représentative (dans le plancton, pigments de 1 litre dans 1 ml d'extrait; dans le benthos, pigments de 1  $cm^2$  dans 10 ml d'extrait). Un tel ~~biogramme~~ <sup>monogramme</sup> (fig. 2) permet de comparer aisément différents échantillons. La relation productivité/biomasse est plus élevée dans les populations qui se placent vers la partie supérieure du graphique (quotient  $D_{430}/D_{665}$  plus bas) et dans les populations expérimentales, on observe que ce quotient monte à mesure que la culture vieillit. On pourrait voir dans cet indice une mesure de la place dans la succession de la population, par exemple que la végétation de *Nostoc* précède d'autres populations dans la colonisation des surfaces des pierres dans les lacs, et qu'*Hydrurus* appartient à une étape qui précède des associations d'algues microscopiques épilithiques dans les ruisseaux, ce qui est en partie vrai. Néanmoins, McCONNEL et SIGLER n'ont pas remarqué des changements de ~~direction~~ <sup>direction</sup> dans la forme des spectres d'absorption correspondant à une succession des populations.

Sur le même graphique peuvent être comparées, d'une façon générale, des communautés très différentes. On a marqué les limites où se placent la plupart d'échantillons d'algues littorales ou de coraux. Enfin, puisque les rapports entre les différents pigments ont une relation certaine avec le rapport entre la quantité totale de pigments et le poids sec, il est possible de connaître approximativement la biomasse qui correspond à chacun des points du ~~biogramme~~ <sup>monogramme</sup>. Ceci a été fait pour le plancton, mais nous ne disposons pas de données suffisantes pour faire de même pour le benthos.

(densité  
optique

L)

monogramme

monogramme

le

orienté

monogramme

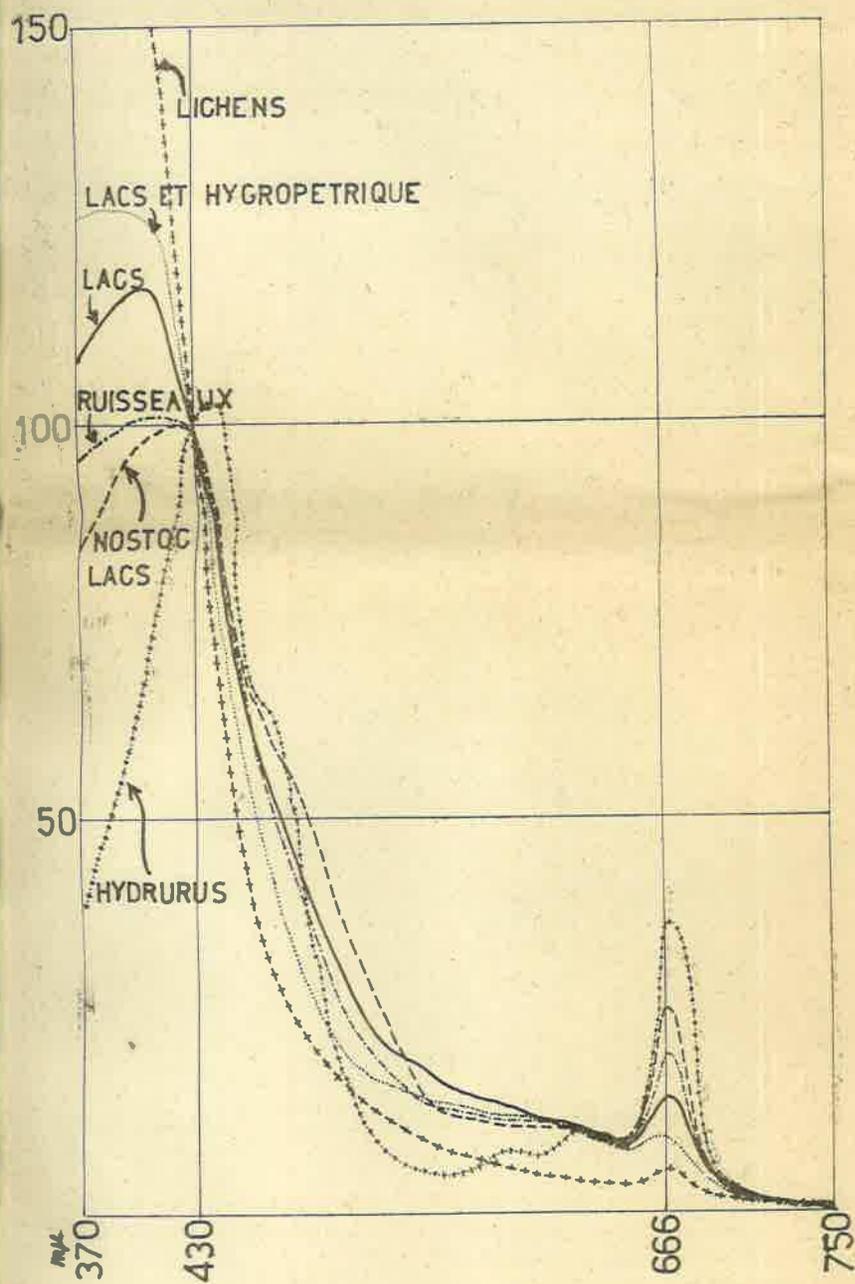


FIG. 1. — Différents types de spectres d'absorption de solutions acétoniques de différentes populations benthiques d'eau douce (Aiguës Tortes, VII-1959). Dans la plupart des courbes, chacune d'elles est une moyenne de différents spectres très rapprochés. Tous les spectres ont été rendus comparables ramenant  $D_{430} = 100$ .

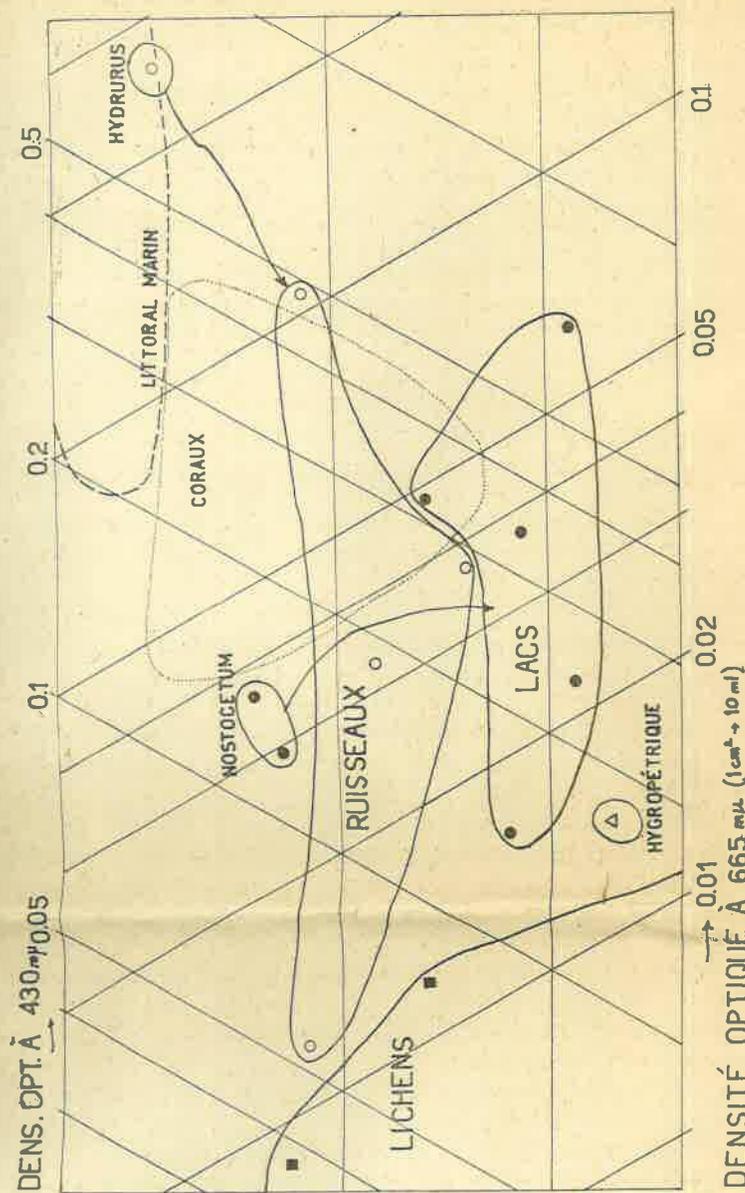


FIG. 2. — Densités optiques à 430  $m\mu$  et 665  $m\mu$  d'une solution d'acétone de 90 % qui en 10 ml contient les pigments d'un centimètre carré de la surface occupée par la végétation. Le point correspondant à la population moyenne réelle d'*Hydrurus* devrait se placer bien plus à droite, à la même hauteur où il a été inscrit.

## BIBLIOGRAPHIE

- BURKHOLDER (P.R.), BURKHOLDER (L.M.) et RIVERO (J.A.), 1959. — Chlorophyll a in some corals and marine plants. *Nature*, 183 : 1338-1339.
- FIGUERAS (A.), 1956. — Moluscos de las playas de la Ria de Vigo. I. Ecología y distribución. *Inv. Pesq.*, 5 : 51-88.
- MCCONNEL (W.J.) et SIGLER (W.F.), 1959. — Chlorophyll and productivity in a mountain river. *Limnol. and Ocean.*, 4 : 335-351.
- MARGALEF (R.), 1959. — Pigmentos asimiladores extraídos de las colonias de celentéreos de los arrecifes de coral y su significado ecologico. *Inv. Pesq.*, 15 : 81-101.
- MOUL (E.T.) et MASON (D.), 1957. — Study of diatom populations on sand and mud flats in the Woods Hole areas. *Biol. Bull.*, 113 : 351.
- ODUM (H.T.) et ODUM (E.P.), 1955. — Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Enivetok Atoll. *Ecol. Monographs*, 25 : 291-320.
- RICHARDS (F.A.), with THOMPSON (Th. G.), 1952. — The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis, I, II. *J. Mar. Res.*, 11 : 147-155, 156-172.

/d