

00000804

355

EMPLOI DES ISOTOPES EN OCÉANOGRAPHIE BIOLOGIQUE

par

J. PAGES et- L. LEMASSON

RAPPORT INTERNE
N° 50

EMPLOI DES ISOTOPES EN OCEANOGRAPHIE BIOLOGIQUE

J. PAGES et L. LEMASSON

Les organismes vivants assimilent des éléments nutritifs.

L'étude de la production d'un système vise, entre autres, à définir et à quantifier le flux de ces éléments, à travers les différents composants du système.

Dans de nombreux cas, l'assimilation entraîne une modification quantitative assez rapide des organismes ou du milieu ; les techniques chimiques classiques permettent de mesurer cette modification. Dans les milieux aquatiques par contre, les concentrations des éléments nutritifs sont généralement trop faibles pour qu'une analyse chimique puisse déceler une modification après un laps de temps raisonnable. De plus, les systèmes sont fréquemment à l'équilibre et les modifications seront faibles ou nulles.

L'emploi de traceurs isotopiques permettra de déceler une assimilation, ou une excrétion, en déterminant le sens et l'intensité du flux de l'élément considéré .

Principes :

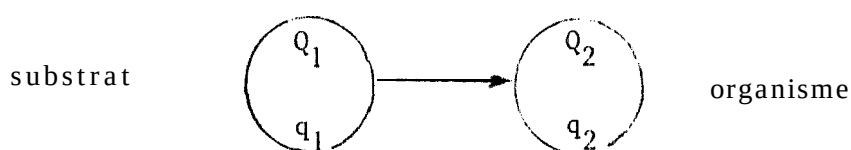
Les hypothèses de base, peuvent paraître arbitraires :

- le système considéré est clos ;
- le système peut être divisé en compartiments distincts, entre lesquels circulent des flux de l'élément considéré ;
- le traceur est un analogue chimique exact de l'élément considéré ; les deux se mélangent instantanément et complètement dans chaque compartiment du système ;
- le traceur est injecté, au temps origine, dans un compartiment donné, à une concentration négligeable par rapport à l'élément naturel ;
- l'incubation ne modifie pas le système. Entre autres, la concentration de l'élément considéré ne varie pas de façon significative dans le milieu extérieur ;
- les taux de transfert sont constants au cours de l'observation.

Si nous désignons par Q_i (en μg par exemple) la quantité de l'élément naturel dans le compartiment i , par q_i la quantité de traceur (en μg ou en c.p.m. (§) dans ce compartiment, nous définirons l'activité spécifique a_i du compartiment comme :

$$a_i = q_i / Q_i$$

Dans le cas le plus simple, seule joue l'assimilation entre un compartiment "substrat" (proie, milieu extérieur, ...) et un compartiment "organisme" (prédateur, phytoplancton, bactéries, ...) :



Le traceur est injecté dans le compartiment "substrat" au temps origine, q_2 étant alors nul. Au temps t , la variation de Q_2 sera déterminée à partir de celle de q_2 en explicitant que l'activité spécifique du substrat disponible et assimilé, est constante :

$$\Delta q_1 / \Delta Q_1 = \Delta q_2 / \Delta Q_2$$

$$\text{Soit} = \frac{q_2(t) - q_2(o)}{Q_2(t) - Q_2(o)} = \frac{q_1(t) - q_1(o)}{Q_1(t) - Q_1(o)}$$

et, puisque q_1 et Q_1 ne varient pas significativement, nous avons :

$$\Delta Q_2 = Q_2(t) - Q_2(o) = q_2(t) \cdot \frac{Q_1}{q_1}$$

Ce calcul simple est généralement employé. Les phénomènes biologiques étant fréquemment plus complexes que le système considéré ici, quelques problèmes épineux peuvent apparaître dans l'emploi des traceurs isotopiques (annexe 1). Cependant, l'équation ci-dessus permet, dans la plupart des cas, une première approche du taux de transfert entre un "substrat" et un "organisme"; une chaîne (ou un réseau) alimentaire pourra ainsi être étudiée.

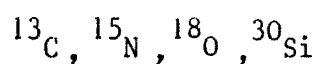
(§) : c.p.m. : coups par minute (désintégrations par minute).

2 : Isotopes stables :

L'emploi d'isotopes non radioactifs, de durée de vie illimitée, permet d'éviter les problèmes administratifs de transport et de manipulation de produits radioactifs. D'autres problèmes **apparaissent** :

- les isotopes stables sont souvent chers ;
- les contaminations par l'élément naturel sont un risque constant ;
- la mesure de la proportion d'un isotope donné est plus délicate, et souvent moins sensible, que la mesure de radioactivité.

Les **isotopes** stables les plus fréquemment employés sont :



La détermination de la proportion de l'isotope artificiel dans un compartiment donné peut s'effectuer par deux techniques. L'appareil le plus fréquemment utilisé est le spectrographe de masse, **séparant** les molécules (introduites sous forme gazeuse), en fonction de leur masse et déterminant leur quantité relative. Cette technique est employée en routine, avec des réglages différents, pour tous les éléments. La manient de l'appareillage est cependant relativement complexe.

Une autre technique a été mise au point pour le dosage de ^{15}N . Une molécule de gaz, excitée, **réémet** de la lumière à des longueurs d'onde dépendant de la masse de la molécule ; une analyse fine du spectre d'émission permet la détermination de la proportion de ^{15}N sur des échantillons de faible masse. L'appareillage, peu encombrant, est d'emploi assez simple. La mise au point de cette technique reste à faire pour d'autres éléments que N.

Applications :

L'emploi de traceurs isotopiques permet, en théorie du moins, de déterminer les flux d'éléments nutritifs à travers un système. Il est évident que les **calculs** seront plus simples, et les résultats moins controversés, si le nombre de compartiments est limité ; cependant, la plupart des systèmes réels comportent plusieurs compartiments, et les résultats seront à prendre avec prudence tant qu'un examen théorique n'aura pas défini le traitement adéquat des résultats expérimentaux.

Isotopes utilisables :

Deux sortes d'isotopes peuvent être utilisés : les isotopes radioactifs, émettant une radiation (α , β ou γ) et 'Les isotopes stables, qui ne diffèrent de l'élément naturel que par leur masse.

1 : Isotopes radioactifs :

L'appareillage de mesure de la radioactivité est actuellement très sensible, et permet de compter de l'ordre de 100 désintégrations par minute, donc de détecter de 10^3 à 10^9 atomes du traceur, selon la période* de l'isotope employé. Parmi les éléments considérés le plus souvent en océanographie biologique, les émetteurs β^- sont les plus employés ($1 n \rightarrow 1 p + 1 e^- + 1 \gamma$). Les isotopes "classiques" sont :

- pour C : ^{14}C (T = 5770 ans, W = 0,15 MeV)
- pour P : ^{33}P (T = 25 jours, W = 0,25 MeV)
- ^{32}P (T = 14,3 jours, W = 1,71 MeV)
- pour S : ^{35}S (T = 86,7 jours, W = 0,17 MeV)
- pour Ge (analogue du Si) :
 ^{75}Ge (T = 82 min , W = 1,18 MeV)
- pour H : ^3H (T = 12 ans , W = 0,02 MeV)

Pour la détection, le compteur Geiger-Müller (détectant l'ionisation d'un gaz) est actuellement supplanté par la technique de la scintillation liquide, basée sur l'émission d'un photon par une molécule organique excitée. Les compteurs à scintillation ont un meilleur rendement que les Geiger-Miiller ; ils permettent en outre la détection de la radiation Čerenkov (^{32}P) en milieu aqueux (donc observation d'organismes vivants), et la mesure de tout processus émettant de la lumière (évaluation de la charge énergétique par mesure de l'ATP).

Dans des suspensions troubles, le "quenching" (affaiblissement de l'ensemble du spectre d'énergie de l'émission) ne pose de réel problème que dans le cas d'un double marquage (^{32}P et ^{14}C par exemple).

(§) L'annexe (1) comporte une bonne part de mathématiques (résolution d'équations différentielles) et de considérations théoriques. Sa lecture n'est pas obligatoire pour la compréhension du texte.

* Période : temps nécessaire à la désintégration de la moitié des atomes présents. La période est notée T dans ce qui suit.

Outre les difficultés théoriques d'analyse des résultats, des problèmes plus matériels peuvent apparaître. La distinction , après incubation, des différents compartiments d'un système nécessite l'emploi, parfois ingénieux, des principes communs de l'analyse chimique (formation de complexes, séparation de phases, emploi des diagrammes d'équilibre, utilisation des tamis moléculaires, etc).

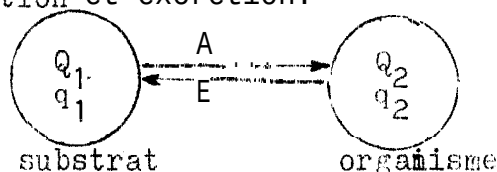
Nous n'avons pas considéré ici les détails pratiques des mesures de radioactivité : discrimination isotopique, "quenching", détermination du rendement de comptage avec étalons externes ou internes, etc.

Nous donnons en annexe 2 quelques exemples de systèmes sur lesquels nous avons travaillé plus ou moins directement, en décrivant assez schématiquement les procédés analytiques employés. Cette annexe ne veut, et ne peut, être qu'une illustration ; il reste à l'ingéniosité de chacun d'imaginer d'autres expériences utilisant les infinies ressources des traceurs isotopiques.

ANNEXE 1

Les calculs qui suivent sont assez spécialisés. D'autre part, les problèmes sont relevés sans qu'une solution y soit apportée dans tous les cas; Cette lacune ne doit cependant pas, à notre avis, conduire à un pessimisme excessif; nous espérons surtout, en exposant les problèmes, induire une réflexion, qui, on peut le souhaiter, aboutira à une solution.

Le cas réel le plus simple comporte deux compartiments, avec assimilation et excrétion:



En supposant (première simplification) que les taux d'assimilation et d'excrétion sont constants, nous pouvons décrire les variations de Q_2 et q_2 par les deux équations différentielles:

$$dQ_2/dt = A.Q_2 - E.Q_2 \quad (1)$$

$$dq_2/dt = A.Q_2.a_1 - E.Q_2.a_2 \quad (2)$$

dans lesquelles nous admettons implicitement que l'assimilation du substrat ne dépend pas de la concentration de ce dernier (substrat non limitant, et concentration ne variant pas assez pour qu'il le devienne).

La résolution d'un tel système d'équations différentielles peut se faire par emploi de l'opérateur différentiel, défini par

$$D.F = dF/dt$$

qui donnera pour (1) et (2) les formes

$$D.Q_2 = Q_2.(A - E) \quad (3)$$

$$D.q_2 = A.Q_2.a_1 - E.Q_2.a_2 \quad (4)$$

L'équation (3) devient aisément:

$$Q_2.[D - (A - E)] = 0 \quad (5)$$

qui a pour solution classique

$$Q_2 = Q_{2(0)} \cdot \exp(\lambda.t) \quad (6)$$

avec

$$\lambda = A - E$$

En explicitant la signification de a_1 et a_2 dans (4), nous avons:

$$D.q_2 = A.Q_2.q_1/Q_1 - E.Q_2.q_2/Q_2$$

soit

$$q_2.(D + E) = A.Q_2.q_1/Q_1$$

ou, en multipliant les deux membres par $(D - \lambda)$ et avec (5):

$$q_2.(D + E).(D - \lambda) = 0$$

qui a pour solution générale:

$$q_2 = \alpha \cdot \exp(-Et) + \beta \cdot \exp(\lambda.t) \quad (7)$$

où α et β sont des constantes que nous déterminons en dérivant (7):

$$dq_2/dt = -E.\alpha.\exp(-E.t) + \lambda.\beta.\exp(\lambda.t) \quad (8)$$

et en passant aux conditions limites à $t = 0$. Les équations (7), (8) et (2) donnent alors:

$$q_2(0) = \alpha + \beta = 0$$

$$dq_2/dt = -E.\alpha + \lambda.\beta = A.Q_2(0).a_1(0).$$

d'où la solution

$$q_2 = Q_2(0).a_1(0)(\exp(\lambda.t) - \exp(-E.t)) \quad (9)$$

L'expression de a_2 se calculera à partir de celles de q_2 et Q_2 :

$$a_2 = a_1(0).(1 - \exp(-A.t)) \quad (10)$$

Le but de l'expérience étant de déterminer A et E par mesure de q_2 ou a_2 , nous devons exprimer ces taux de transfert en fonction des mesures. D'après (10), nous avons:

$$A = \frac{1}{t} \cdot \ln(1 - a_2/a_1)$$

qui est assez différent de l'expression classiquement utilisée. De même, l'équation (9) donne à :

$$\ln.q_2 = \ln(Q_2(0).a_1(0)) - E.t + \ln(1 - \exp(-A.t))$$

qui ne peut aboutir à une détermination de E et A que par une laborieuse déconvolution de la courbe de q_2 en fonction du temps, ce qui implique nécessairement plusieurs mesures,

Nous voyons que, même dans ce cas outrageusement simplifié, l'emploi des isotopes ne fournit pas des résultats aussi aisément exploitables que la plupart des utilisateurs le pensent - ou le souhaitent -. Dans les cas, fréquents, où l'assimilation est une fonction du temps (effet de la lumière, etc), la résolution analytique du système se complique très nettement, tout en restant possible. Cependant, les expressions littérales de q_2 et Q_2 deviennent telles que leur exploitation pour en déduire les taux de transfert est risquée, sinon impossible. Il ne suffit pas, en effet, de résoudre le problème théorique de la déconvolution, mais il faut surtout appliquer les calculs à des résultats expérimentaux.

Le trait constant des résultats de ces considérations mathématiques est la nécessité absolue de procéder à plusieurs mesures successives dès qu'une seule mesure ~~su~~, après incubation de 15 à 30 minutes, ne peut suffire. Dans ce dernier cas, E ne peut évidemment être déterminé,

Nous pouvons enfin relever que nous avons admis que le compartiment "organisme" est indivisible. Il advient que ce point de vue entraîne des impossibilités flagrantes dans les résultats des calculs; ceci est particulièrement vrai pour les expériences portant sur l'excrétion de C ou P organique. La seule

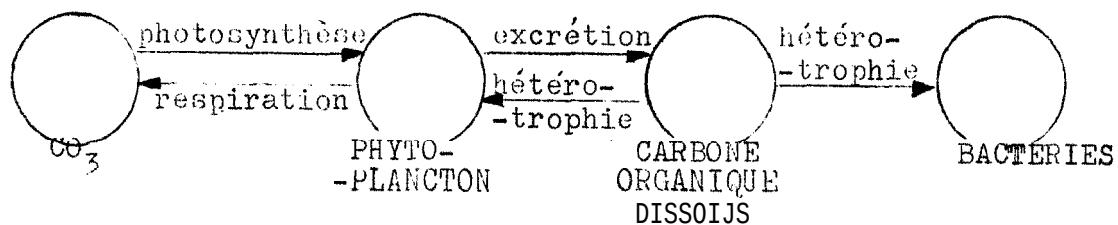
façon de réconcilier la logique et le calcul consiste à admettre l'existence d'au moins deux compartiments dans l'"organisme" considéré. Dans certains cas, les interfaces eau-particules sont le siège de phénomènes physiques parasites, qui entraînent la nécessité de créer un nouveau compartiment, distinct biologiquement mais non physiquement des particules. On aboutit ainsi aisément à un système à 6 compartiments, inabordable par résolution analytique; La solution peu élégante de la simulation numérique n'apporte pas toujours pleine satisfaction quant à la détermination des taux de transfert entre compartiments.

En conclusion, nous désirerions insister sur le fait que ce qui précède n'est pas l'expression d'un pessimisme excessif, mais une tentative d'examen critique de techniques autrefois révolutionnaires, mais depuis sanctifiées par l'usage. Nous espérons que des personnes plus éclairées auront à la fois le courage d'affronter ces problèmes et la capacité de les résoudre.

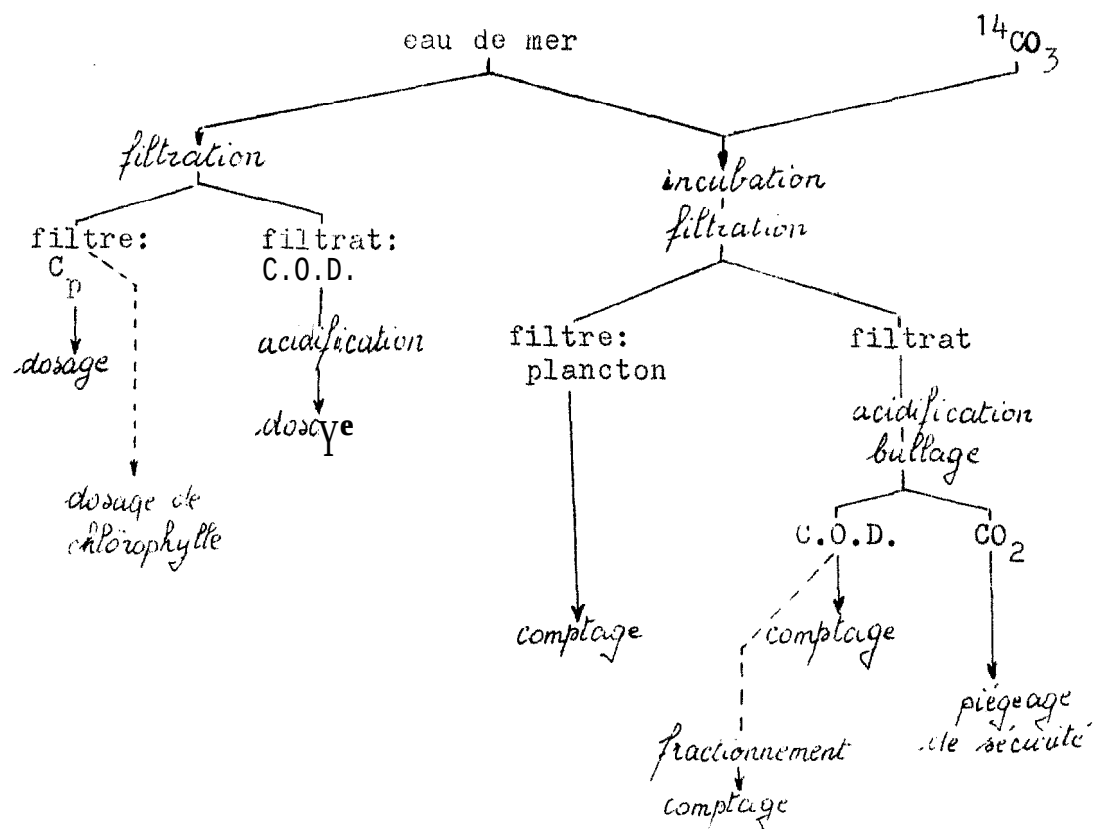
ANNEXE 2

Exemples d'emploi de traceurs isotopiques
pour l'étude de systèmes biologiques1: Assimilation photosynthétique de C ("méthode au ^{14}C):

a: système biologique:



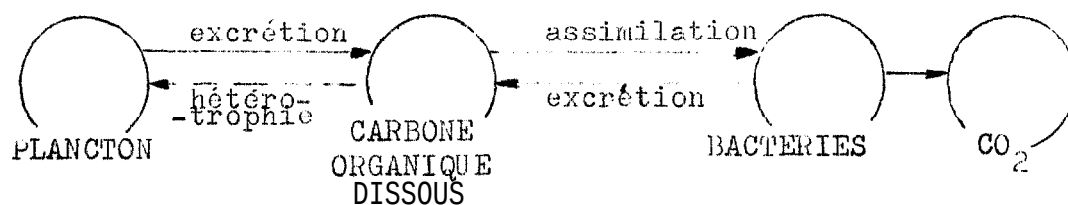
b: schéma expérimental:



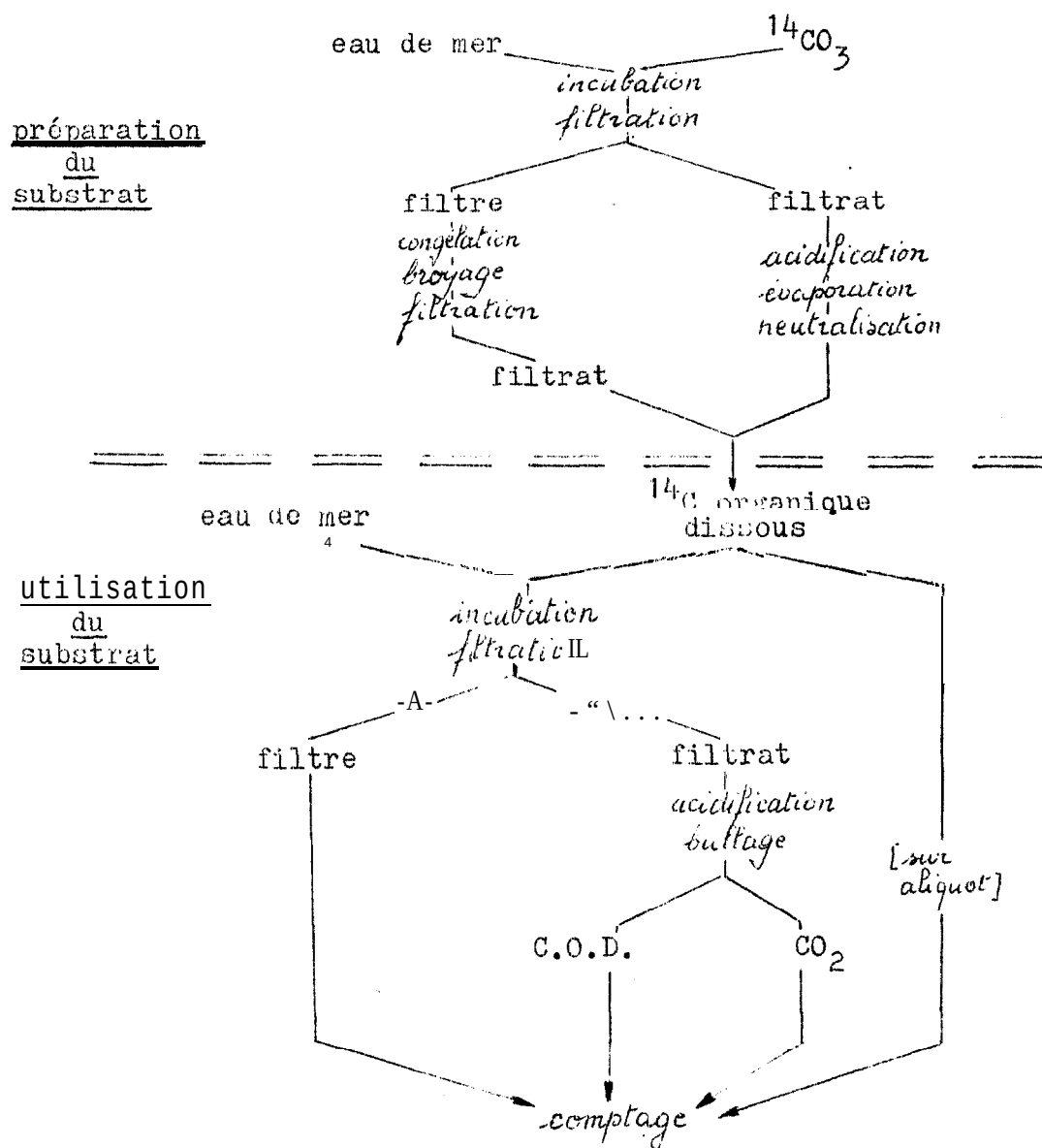
2: Utilisation hétérotrophe du carbone organique dissous:

366

a: système biologique:

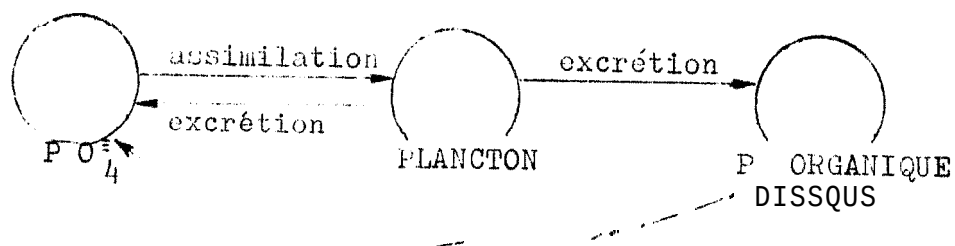


b: schéma expérimental:



3: Assimilation de PO_4^{3-} :

a: système biologique:



b: schéma expérimental:

