

DYNAMIQUE DES POPULATIONS BACTERIENNES AU COURS DE DEUX
PRODUCTIONS EXPERIMENTALES DE PHYTOPLANCTON MARIN NATUREL

par

M. A. BIANCHI +, Y. P. MARTIN ++

+ Laboratoire de Microbiologie du Milieu Marin. Université de
Provence. Place Victor Hugo 13331 Marseille Cedex 3

++ Fondation Scientifique Ricard. Observatoire de la Mer
Le Brusac 83140 Six Fours Les Plages

R E S U M E

Lors de deux expériences, l'une printanière, l'autre automnale, de production primaire artificielle, nous avons constaté que l'importance quantitative de la microflore bactérienne totale hétérotrophe varie peu d'une expérience à l'autre, et noté un léger accroissement de cette population lors de la phase de déclin du phytoplancton. Des changements rapides (parfois en 24 heures) et fréquents des composants des populations bactériennes sont mis en évidence. La microflore de la poussée printanière est nettement différente de celle de la poussée d'automne. Les potentialités métaboliques des populations bactériennes varient sensiblement dans le temps.

A B S T R A C T

Quantitative and qualitative variations of the heterotrophic bacterial population, during two experimental induced phytoplanktonic blooms are described.

When the phytoplanktonic population decreases, the bacterial population exhibits a significant increase.

The spring microflore is quite different from the fall ones. Microbiological, physiological and biochemical fluctuations indicate qualitative fluctuations. Bacterial strains are identified as "bacterial profiles".

M O T S - C L E S : Plancton, Bactéries, Dynamique, Physiologie, Structure

K E Y W O R D S : Plankton, Bacteria, Dynamic, Physiology, Structure

Contrat C.N.E.X.O. n° 77/1689

INTRODUCTION

Les études d'interrelations entre populations phytoplanctoniques et populations bactériennes, effectuées dans des cultures de laboratoire, ont montré que les cellules bactériennes représentent une part non négligeable de la Biomasse totale de ces écosystèmes expérimentaux. Par ailleurs, il est probable que la microflore bactérienne joue un rôle important dans la productivité de tels systèmes en agissant sur la minéralisation, la production de facteurs de croissance, les phénomènes de compétition, d'antibiose, etc... Enfin, le développement d'espèces bactériennes phytopathogènes peut représenter un danger pour le développement algal (BLASCO, 1965 - STEWART et BROWN, 1969 - DAFT et al., 1975). La sensibilité extrême des bactéries aux facteurs externes, peut provoquer des changements rapides de la structure des populations considérées, même dans un écosystème apparemment stable, en rompant ainsi son équilibre.

L'approche logique de ces problèmes consiste en l'analyse simultanée des populations bactériennes et planctoniques, de manière à essayer de déterminer les modalités qui contrôlent leur développement. Les relations entre les algues et les bactéries ont été discutées par plusieurs auteurs travaillant sur des cultures de faible volume (VELA et GUERRA, 1968 - BERLAND et al., 1969 - LITCHFIELD et al., 1969 - MURCHELANO et BROWN, 1969 - THOMAS et DAUMAS, 1970 - NIEWOLAK, 1971 - BERLAND et al., 1972, 1974 - PRIEUR et LE ROUX, 1975), mais peu de travaux ont été réalisés sur l'évolution temporelle quantitative et qualitative des populations planctoniques et bactériennes (SIEBURTH, 1968 - PODAMO, 1972 - TAGA et MATSUDA, 1974 - TANAKA et al., 1974 - RIEPER, 1976). La rareté et l'absence de continuité dans de tels travaux sont dues au volume important des manipulations requises pour établir, de manière statistiquement valable, la structure qualitative complexe des populations bactériennes.

Le travail ici présenté a été réalisé au cours de deux expériences de production primaire artificielle, provoquées dans les bassins de l'île des Embiez (Printemps et Automne 1977). Nous avons suivi simultanément l'évolution quantitative, et, dans la mesure du possible, qualitative des populations phytoplanctoniques et bactériennes. Les modalités d'investigation nécessaires à l'étude qualitative des microflores bactériennes nous ont permis de suivre également l'évolution des potentialités métaboliques de ces dernières, tout au long des différentes phases du développement phytoplanctonique.

MATERIELS ET METHODES

L'évolution de la population bactérienne a été étudiée selon trois aspects complémentaires : - évolution quantitative de la microflore hétérotrophe totale, - évolution des potentialités métaboliques des microbiocénoses, - évolution de la structure qualitative de la population.

1. ESTIMATION QUANTITATIVE DE LA MICROFLORE HETEROTROPHE TOTALE

Nous avons utilisé la méthode indirecte par mise en culture des échantillons sur milieu 2216 E d'OPPENHEIMER et ZOBELL (1952) et incubation pendant 15 jours à la température du laboratoire, avec une fréquence de prélèvement bi-quotidienne.

2. POTENTIALITES CATABOLIQUES ET STRUCTURE DES POPULATIONS BACTERIENNES

2.1. Méthode d'échantillonnage

Lors de l'expérience ECOTRON I, les bactéries ont été isolées en fonction de l'évolution des populations planctoniques (taux de chlorophylle a, modifications qualitatives). Dans la seconde expérience, les isolements ont été réalisés systématiquement tous les deux jours.

Pour permettre des comparaisons entre les divers prélèvements, nous avons utilisé un mode d'échantillonnage des souches bactériennes excluant toute possibilité de choix arbitraire de la part de l'opérateur. Pour chaque échantillon 20 à 25 souches bactériennes sont prélevées, à partir des cultures sur milieu solide, selon une grille standard de prélèvement au hasard.

2.2. Technique d'étude des bactéries isolées

Après purification par repiquages successifs, les souches bactériennes ont été soumises à une batterie de tests morphologiques, biochimiques, physiologiques et culturels qui ont été sélectionnés à la fois pour leur pouvoir discriminant et leur rapidité d'exécution. Pour l'expérience ECOTRON I, 230 souches provenant de 11 prélèvements ont été étudiées, et pour l'expérience ECOTRON II, 370 souches, soit 18 prélèvements.

Ces tests permettent un certain diagnostic du groupe bactérien considéré et apportent des renseignements d'ordre écologique par l'analyse des potentialités métaboliques de ces échantillons de la population bactérienne de chaque prélèvement.

- Tests morphologiques et cultureux : morphologie cellulaire, sporulation, coloration de Gram, morphologie et coloration des colonies, croissance à 4, 37 et 41°C, croissance à 0 et 175‰ de NaCl (ECOTRON I), à 0, 70 et 100‰ de NaCl (ECOTRON II).

- Les tests physiologiques, biochimiques et nutritionnels ont déjà été publiés (BIANCHI M., 1971). Nous avons testé 33 composés organiques comme seule source de carbone et d'énergie pour ECOTRON I, et 55 pour ECOTRON II. Ces substrats appartiennent à différentes familles de composés organiques (sucres, acides gras, acides organiques, acides aminés, alcools), et ont été choisis pour leur pouvoir discriminant établi en fonction des réponses des bactéries d'une collection personnelle.

2.3. Traitement des données

A partir des caractères descriptifs des souches bactériennes, nous avons établi des indices synthétiques permettant, d'une part, de chiffrer les potentialités métaboliques de chaque prélèvement, et, d'autre part, de décrire l'évolution temporelle qualitative de la population bactérienne d'un prélèvement à l'autre.

Les paramètres descriptifs de chaque échantillon sont :

- la biomasse bactérienne (nombre de bactéries par ml)
- les potentialités cataboliques de la population bactérienne, pour lesquelles nous avons considéré :
 - . l'IME ou indice moyen de présence d'exoenzymes, correspondant au pourcentage moyen du nombre d'exoenzymes présents chez l'ensemble des souches d'un échantillon,
 - . l'écart-type de l'IME qui reflète la distribution de ces exoenzymes à l'intérieur de l'échantillon,
 - . l'IMU, ou indice moyen des pourcentages d'utilisation des substrats proposés comme source de carbone et d'énergie,
 - . l'écart-type de l'IMU qui reflète la distribution de l'utilisation des différents substrats à l'intérieur de l'échantillon, encore appelé indice de diversité nutritionnelle.
 - . la potentialité catabolique, c'est-à-dire le pourcentage de substrats utilisés par au moins une souche du prélèvement.

Pour la structure qualitative de la population bactérienne, les souches de chaque prélèvement sont soumises à une comparaison deux à deux, un programme établissant, pour chaque paire de souches, un coefficient de similitude (S_{SM} = coefficient de SOKAL et MICHENER, 1958). Un dendrogramme traduit la ressemblance et le regroupement selon le lien simple de l'ensemble des souches d'un prélèvement.

Les coefficients de similitude et les groupes formés dans chaque dendrogramme ont permis de décrire des "profils bactériens". La situation actuelle de la systématique bactérienne ne permettant pas, dans le cas d'une étude écologique qui nécessite la manipulation d'un grand nombre de souches microbiennes, une identification rapide et complète (genre et espèce), nous avons substitué, momentanément, ces profils bactériens aux déterminations classiques. Dans ce travail, les appellations génériques servent uniquement de supports analogiques à la dénomination des profils.

Chaque profil établi tient compte des groupements de souches bactériennes définis précédemment, et de la vraisemblance de ces groupes sur le plan bactériologique selon des critères de niveau générique (forme et arrangements cellulaires, mobilité, sporulation, coloration de Gram, pigmentation des colonies, type respiratoire, oxydase etc...).

Si les profils bactériens ainsi définis ne permettent pas d'obtenir une identification spécifique des bactéries isolées, ils sont suffisamment précis pour permettre de les reconnaître et d'en suivre l'évolution au long des différents prélèvements.

A partir de ces profils, nous avons décrit :

- . la distribution des grands groupes bactériens rencontrés,
- . la richesse "spécifique" : nombre de profils par échantillon,
- . l'indice de diversité de SHANNON (1948)

$$\bar{D}' = - \frac{q_i}{Q} \log_2 \frac{q_i}{Q} \quad \begin{array}{l} Q \text{ individus répartis en } N \\ \text{profils ayant des effectifs} \\ \text{de } q_i \text{ individus} \end{array}$$

- . l'estimation de la dominance selon TRAVERS (1971) en tenant compte du profil numériquement le plus abondant (Δ_1) ou des deux profils dominants (Δ_2)

$$\Delta_1 = \frac{100 \times N_1}{Q}$$

$$\Delta_2 = \frac{100 (N_1 + N_2)}{Q}$$

RESULTATS

1. EVOLUTION QUANTITATIVE DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES ET BACTERIENNES LORS DES EXPERIENCES ECOTRON I ET ECOTRON II

La figure 1 présente, pour les expérience ECOTRON I et ECOTRON II, l'évolution des taux de chlorophylle a, du nombre de bactéries hétérotrophes et de la température.

1.1. ECOTRON I

- La courbe de chlorophylle a présente une allure classique, passant de 0,22 µg/l (teneur des eaux de la lagune) à 25 µg/l en une semaine ; un plateau de neuf jours à 24 µg/l et une chute d'une durée de 3 jours jusqu'à atteindre un taux de 9,3 µg/l.

- La biomasse bactérienne, identique au départ à celle de la lagune ($1,6 \cdot 10^3$ bactéries/ml) augmente pendant la phase exponentielle, avec cependant une légère diminution le 1er Mai, vraisemblablement due à la baisse de température (figure 1). Après la reprise de l'augmentation du nombre de bactéries, on note une nouvelle diminution de la concentration bactérienne le 4 Mai, pouvant correspondre, soit au maximum du potentiel photosynthétique, soit à une diminution de la température (figure 1), soit à un pic concomitant de ciliés utilisant les bactéries comme nourriture.

A la diminution de la concentration en chlorophylle a, indiquant la disparition de la population phytoplanctonique, correspond une augmentation nette de la biomasse bactérienne ($8 \cdot 10^4$ bactéries/ml).

1.2. ECOTRON II

- L'évolution de la population phytoplanctonique est totalement différente de celle observée lors de l'expérience ECOTRON I. Au départ, l'eau de la lagune contient $0,42 \mu\text{g/l}$ de chlorophylle a ; le 28 et le 29, on note deux petits pics, de $1,33 \mu\text{g/l}$ et $1,28 \mu\text{g/l}$.

On observe une croissance exponentielle nette dix jours après le départ de l'expérience, alors que cette même phase apparaissait en 48 heures lors d'ECOTRON II.

Après cinq jours de plateau (entre 15 et $16 \mu\text{g/l}$ de chlorophylle a), une chute de la teneur en chlorophylle ($7,32 \mu\text{g/l}$) annonce la fin de cette poussée, et correspond à une chute de la température.

Le décalage saisonnier entre les deux expériences (printemps pour ECOTRON I et automne pour ECOTRON II) peut expliquer la différence de comportement des populations phytoplanctoniques.

- La biomasse bactérienne se comporte aussi de manière différente de celle d'ECOTRON I. La valeur de départ est un peu plus élevée ($2,5 \cdot 10^3$ bactéries/ml). A la suite des deux premiers petits pics de chlorophylle a, cette biomasse augmente jusqu'à 10^4 bactéries/ml, puis rediminue légèrement au bout de deux jours.

Comme dans ECOTRON I, on note une augmentation du nombre de bactéries concomitante à la phase exponentielle de la chlorophylle a, et une augmentation plus importante lors de la diminution du taux de chlorophylle a (ou disparition d'une partie de la population phytoplanctonique). Un pic de cette population bactérienne est à signaler au milieu du plateau de la courbe de la chlorophylle a, qui n'apparaissait pas dans l'expérience ECOTRON I.

L'influence de la température sur la population bactérienne semble, dans cette expérience, se limiter à une diminution de cette population en fin d'expérimentation.

2. EVOLUTION DES POTENTIALITES CATABOLIQUES DES POPULATIONS BACTERIENNES LORS DES EXPERIENCES ECOTRON I ET ECOTRON II

2.1. ECOTRON I

La figure 2 présente l'équipement moyen en exoenzymes (IME) et l'indice moyen d'utilisation des substrats carbonés (IMU) en fonction de la courbe de la chlorophylle a. Sur cette figure, on peut voir que les IME et les IMU sont sensiblement égaux : entre 25 et 40 % de la population jusqu'au 8 Mai, date à laquelle les IME deviennent nettement plus importants. Cette date correspond à la diminution des effectifs d'un des principaux composants de la population phytoplanctonique (Chaetoceros sp.)

Le tableau 1 présente les valeurs IME, écart-type exoenzymes, potentialités cataboliques, IMU et versatilité nutritionnelle de l'ensemble des souches de chaque prélèvement.

En ce qui concerne la présence des exoenzymes chez les bactéries des différents prélèvements, la figure 3 met en évidence une ligne générale de la fluctuation valable pour les cinq exoenzymes testés. Les écarts-types (tableau 1) des IME montrent deux périodes, du 27/4 au 10/5 pendant laquelle les exoenzymes sont présents à des taux variés, et à partir du 10/5 où l'on observe un regroupement des valeurs obtenues.

Les indices d'utilisation des différentes familles de composés organiques (fig. 4) montrent un accroissement de tous les IMU jusqu'à la fin de la phase exponentielle de la courbe de la chlorophylle a ; puis les acides gras présentent une chute de leur utilisation, se séparant ainsi nettement des autres familles de composés.

La diversité nutritionnelle (tableau 1) est relativement faible et la potentialité catabolique relativement élevée, indiquant une utilisation d'un grand nombre de substrats par un petit nombre de souches.

2.2. ECOTRON II

La figure 2 met en évidence des potentialités cataboliques (IME et IMU) très différentes de celles de ECOTRON I, par rapport à la courbe de chlorophylle. Ainsi, les IMU sont toujours supérieurs aux IME. Seul l'écart des valeurs entre ces deux paramètres varie, en particulier après les deux premiers petits pics de chlorophylle a où l'IME avoisine l'IMU, de même qu'à la fin du plateau. Il s'agit probablement, comme dans ECOTRON I, de l'augmentation des IME en présence d'un taux plus élevé de matériel biologique mort (matières organiques).

Les indices moyens de présence d'exoenzymes sont plus faibles que dans ECOTRON I (voir tableau 2). La chitinase est pratiquement absente tout au long de l'expérience (fig. 3). Une augmentation de l'ensemble des exoenzymes suit les deux pics de chlorophylle a (26/10, 28/10) ; on note aussi une augmentation de l'IME de tous les exoenzymes à partir du 12/11. Seule la tween estérase se comporte dans ECOTRON II comme dans ECOTRON I.

Lors de la deuxième expérience, les IMU sont plus faibles pour toutes les familles de composés que lors de la première (fig. 4) ; toutes les familles de composés suivent les mêmes fluctuations.

Les potentialités cataboliques très élevées et les versatilités nutritionnelles de faibles valeurs, indiquent une population qui utilise tous les substrats, ou presque, avec une fréquence faible.

3. EVOLUTION QUALITATIVE DE LA POPULATION BACTERIENNE LORS DE L'EXPERIENCE ECOTRON I

Les profils bactériens ont été établis pour chaque prélèvement ; les découpes des dendrogrammes en profils différents sont fixées par l'inflexion des courbes d'entrée des souches dans les phénomènes (BIANCHI A., 1971).

La figure 5 permet de suivre l'évolution des deux composantes principales (groupe pseudomonade et groupe vibrion) au cours de l'expérience ECOTRON I. Cette figure visualise également l'évolution des divers indices de diversité des profils écologiques établis (indice de diversité de SHANNON ; dominances Δ_1 et Δ_2).

DISCUSSION

Par rapport à la population relativement réduite ($1,6 \cdot 10^3$ bactéries/ml dans ECOTRON I et $5 \cdot 10^3$ bact/ml dans ECOTRON II) de l'eau oligotrophe de la lagune du Brusco, l'augmentation de la biomasse planctonique provoque deux accroissements successifs de la biomasse bactérienne. Tout d'abord, lors de la phase exponentielle de croissance du plancton, l'augmentation du nombre de supports ainsi que l'apparition probable de matière organique sous forme d'excrétats phytoplanctoniques, induisent une augmentation légère mais nette du nombre de bactéries. Ensuite, la chute d'une partie ou de la totalité de la population phytoplanctonique, créant un apport massif de matière organique morte, entraîne une nouvelle et plus forte augmentation de la biomasse bactérienne. Ces phénomènes sont bien connus, en milieu marin (DEVEZE, 1959 - SIEBURTH, 1968 - TANAKA et al., 1974 - RIEPER, 1976), dans les étangs sans renouvellement d'eau (PODAMO, 1972 - TAUVÉRON, 1976), et dans les cultures algales monospécifiques (VELA et GUERRA, 1966 - PRIEUR et LE ROUX, 1975).

Il faut cependant signaler que le volume du bassin et le renouvellement constant de l'eau ne permettent pas à cette population bactérienne, constamment diluée de même que les matières organiques, d'atteindre des valeurs aussi élevées que celles constatées en culture ou en étang non renouvelé.

Les deux expériences ont également permis de constater le rôle limitant de la température sur la biomasse bactérienne lorsque celle-ci n'est pas très importante. Ainsi, lors de ECOTRON I, la baisse de la biomasse bactérienne observée le 1er Mai reflète la chute de la température. De même, il est certain que la forte diminution de la température enregistrée au moment de la chute du phytoplancton, pendant l'expérience ECOTRON II, a limité le développement du bloom bactérien consécutif. Dans cette même expérience, les deux poussées phytoplanctoniques limitées dans une période où la température était relativement élevée, ont provoqué un développement de la population bactérienne aussi important que la poussée du 5 au 12 Novembre, à la fin de laquelle la température a marqué une nette diminution.

Comme EZURA et al. (1974) et MORITA (1971), nous avons pu constater l'importance relative de la population psychrophile par rapport à la population totale dans l'expérience d'automne. Avec une méthode de prélèvement au hasard, nous avons isolé de 0 à 6 % de bactéries capables de se développer à 4°C dans les prélèvements de ECOTRON I, alors que ce pourcentage s'élève à 35-55 % lors de ECOTRON II.

Cependant, malgré des prélèvements bi-quotidiens, les fluctuations quantitatives de cette microflore totale hétérotrophe sont trop peu précises pour cerner les bouleversements subis par la population bactérienne lors de l'évolution de la population planctonique.

La recherche des potentialités cataboliques, réalisée sur des bactéries échantillonnées au hasard dans chaque prélèvement, permet déjà d'obtenir une meilleure image de l'évolution temporelle des populations bactériennes.

Si l'on considère les figures 3 et 4, on peut voir immédiatement l'aspect différent des courbes résultant de ECOTRON II par rapport à celles de la première expérience. Les valeurs obtenues à partir des souches d'ECOTRON II sont plus faibles et les fluctuations sont atténuées. Ce phénomène a probablement deux origines. Les deux expériences ont été effectuées à deux saisons opposées (printemps et automne) ce qui a pu sélectionner certaines espèces phytoplanctoniques et bactériennes (LAYCOK, 1974 - TRENTHAM, 1976 - RIEPER, 1976). De plus, dans ECOTRON II, les phénomènes planctoniques se réalisent plus lentement et avec une intensité plus faible que dans ECOTRON I ; de ce fait, les fluctuations des potentialités métaboliques de la population bactérienne évoluent de manière moins heurtée.

Par contre, dans ECOTRON I, et lors des deux petites poussées très fugaces d'ECOTRON II, les populations bactériennes subissent un stress plus violent et leurs réactions sont plus importantes et plus nettes, en particulier au niveau de la présence des exoenzymes (fig. 3 et 4). Les fluctuations saisonnières de l'hydrolyse du glucose et de l'amidon, de la réduction du nitrate, de la fermentation du saccharose et du glucose, mises en évidence par TRENTHAM (1976) reflètent ces variations de la population bactérienne, bien que cet auteur ait choisi arbitrairement les bactéries dans les échantillons. Si cet auteur relève des évolutions différentes et même contradictoires selon le lieu de prélèvement, c'est que les fluctuations de la population planctonique doivent

être différentes et plus ou moins marquées selon les zones d'échantillonnage.

La différence de nature des populations bactériennes considérées, l'une printanière, l'autre automnale, se reflète bien dans la présence ou l'absence des exoenzymes et dans l'ordre d'utilisation préférentielle des familles de substrats.

Ainsi, dans ECOTRON I, à partir du 7/5, la population bactérienne est bien équipée en chitinase, cet équipement de la microflore pouvant refléter, soit une composition spécifique particulière du phytoplancton, soit l'apparition de zooplancton. Les populations bactériennes de ECOTRON II ne possèdent pratiquement jamais de chitinase (fig. 3).

En ce qui concerne l'utilisation des familles de composés organiques testés, les bactéries de ECOTRON II présentent une utilisation toujours sensiblement égale de ces différentes familles, avec une légère préférence pour les acides gras. Or, lors de l'expérience ECOTRON I, ces acides gras, moyennement utilisés par la population bactérienne voient leur pourcentage d'utilisation chuter dès la diminution des effectifs de Chaetoceros sp., un des deux composants principaux de la population phytoplanctonique.

BERLAND et al. (1976), à partir d'une population bactérienne d'une zone marine eutrophe, ont mis en évidence la préférence de l'ensemble des bactéries isolées de cette population pour les acides gras, puis les acides aminés, les sucres étant utilisés pour moitié des acides gras. En fait, les deux graphiques de la figure 3 montrent que les substrats les plus utilisés varient non seulement d'une population planctonique à l'autre, mais encore au cours des différentes phases d'une même population. Il est donc nécessaire de rapporter chaque fois les potentialités métaboliques des populations bactériennes à une description précise de la population phytoplanctonique.

Par contre, l'utilisation des acides aminés comme source de carbone et d'énergie semble, en général, être toujours moyenne, variant peu, ce qui pourrait indiquer que ce type de composés organiques serait assimilé par une microflore banale, plutôt que de correspondre aux besoins spécifiques d'une population particulière.

Dans l'ensemble, le pourcentage de bactéries possédant des exoenzymes augmente lors de l'apparition, dans le milieu, de matière organique morte, peu ou pas dégradée, alors que simultanément l'utilisation des petites molécules organiques diminue. L'amplitude et la vitesse de ces changements métaboliques d'une population bactérienne sont fonction de la qualité, de l'amplitude et de la vitesse d'évolution de la population planctonique.

Toutes ces variations traduisent en fait les changements qualitatifs de la population bactérienne. Nous savons que le problème de l'écologie bactérienne réside à la fois dans l'identification des bactéries et dans le traitement du grand nombre de données nécessaires à cette identification. Plusieurs auteurs ont utilisé des programmes mathématiques pour les traitements des résultats bactériologiques, soit en analyses ponctuelles des correspondances

(BERLAND et al., 1974 - DARLAND, 1975), soit à l'aide d'un programme de classification hiérarchique (BIANCHI A., 1971 - OLIVER et COLWELL, 1974 - STEVENSON et al., 1974). Les résultats obtenus par ces différents auteurs sont encourageants bien que dans chaque cas les prélèvements n'aient été que ponctuels, dans le temps et parfois dans l'espace.

Dans un premier temps nous pouvons disposer des résultats de l'analyse qualitative des populations bactériennes de l'expérience ECOTRON I.

L'évolution qualitative de la population planctonique a permis de définir trois périodes durant cette expérimentation : une période de croissance jusqu'au 4 Mai, une phase d'équilibre du 4 au 9 Mai et une période très complexe pendant laquelle l'équilibre est rompu et les populations phytoplanctoniques disparaissent.

Au cours des 11 prélèvements destinés à l'étude bactériologique qualitative l'évolution des potentialités métaboliques en fonction de la richesse du milieu va se traduire par des successions de populations bien individualisées.

Les microflores bactériennes rencontrées se composent essentiellement de bâtonnets asporulés Gram négatif, comme le signalent SIEBURTH (1968), SIMIDU et col. (1971), BERLAND et al. (1974), KANEKO et COLWELL (1973), et SIMIDU et al. (1977). Il semble que les bactéries Gram positif (Bacillus et Micrococcus) soient inhibées par les cellules de phytoplancton (NIEWOLAK, 1971).

Lors de cette expérience peu de bactéries présentaient une coloration particulière, ce qui ne sera pas le cas dans ECOTRON II où, à certains moments, l'apparition de populations bactériennes à coloration variée (couleur rose-orangée) rappellera les phénomènes observés par RIEPER (1976) lors de poussées planctoniques à des saisons différentes.

Lors du premier prélèvement (le 27/4) la population initiale est celle de la lagune. La population bactérienne est hétérogène : 18 profils différents pour 23 souches étudiées. L'indice de SHANNON est élevé (4,06) et la dominance faible ($H_1 = 13\%$). Les pseudomonades (bâtonnets asporulés, Gram négatif, non colorés, aérobies stricts, oxydase positive) dominent (43 % des souches). Les vibrions (bâtonnets asporulés, Gram négatif, non colorés, aérobies facultatifs, oxydase positive), sont peu représentés (10 %). Ces proportions sont habituelles en eau de mer (SIMIDU et al., 1971 - BIANCHI M., 1976 - SIMIDU et al., 1977).

L'apport des sels nutritifs induit un développement rapide de la population phytoplanctonique qui va modifier la population bactérienne.

. La première phase de l'évolution planctonique (27/4 - 4/5) correspond à l'installation d'un stade I de développement phytoplanctonique (taux de chlorophylle a élevé, Skeletonema costatum et Chaetoceros sp. dominants et en bon état physiologique, Charge énergétique élevée).

La mise en route du système expérimental et l'apport en sels nutritifs provoquent un bouleversement des populations bacté-

riennes se traduisant par une diminution de la diversité spécifique (fig. 5). Puis la diversité des populations bactériennes va augmenter régulièrement jusqu'au 4 mai où apparaît un peuplement de diversité élevée (4,22) avec une dominance très faible ($\Delta_1 = 10\%$), rappelant les conditions de départ.

Si ces valeurs semblables des coefficients de dominance et d'abondance traduisent une analogie d'état de la population bactérienne à deux états différents de la population planctonique, l'analyse des potentialités métaboliques de ces populations bactériennes met en évidence une différence qualitative (profils) entre le prélèvement du 24/4 et celui du 4/5. Ainsi, l'IMU augmente jusqu'au 4/5 de façon concomitante avec l'enrichissement chimique du milieu. La versatilité nutritionnelle augmente le 2/5, par contre, elle amorce une diminution le 4/5, traduisant probablement une spécialisation nutritionnelle des bactéries présentes vis-à-vis des composés organiques apparaissant dans le milieu (excrétions phytoplanctoniques). Bien que les profils rencontrés durant cette phase se modifient (acquisition de nouvelles potentialités métaboliques au sein des souches d'un même groupe taxonomique), les pseudomonades dominent toujours durant cette période. STEBURTH (1968), SIMIDU et al. (1977) ont décrit l'antagonisme direct entre les vibrions et le phytoplancton en croissance rapide.

. La deuxième phase de l'évolution planctonique (4/5 au 9/5) est caractérisée par une stabilisation de la biomasse planctonique (plateau de la chlorophylle a). Le stade I est en place, Skeletonema costatum domine nettement, mais Chaetoceros sp. diminue nettement à partir du 7/5. Cette diminution des effectifs de la population de Chaetoceros est accompagnée d'une diminution importante de la charge énergétique des cellules phytoplanctoniques. Une telle diminution peut être interprétée comme l'indice d'une détérioration de l'état physiologique des cellules, traduisant l'entrée en vie ralentie ou une mortalité importante (ROMANO et LABORDE, 1977).

Du 4/5 au 7/5 l'IMU et la versatilité nutritionnelle diminuent fortement ainsi que l'indice de SHANNON, indiquant le début de la prédominance d'un type bactérien.

Dès le prélèvement du 8/5 on constate une augmentation importante de l'IME associée à une diminution de l'IMU. L'arrivée d'un matériel biologique mort non dégradé semble avoir induit l'apparition d'une population bactérienne à fort équipement en exoenzymes (IME important et écart type de l'IME indiquant une bonne répartition sur l'ensemble des bactéries).

Le 8/5 l'indice de SHANNON est faible, la dominance Δ_1 très forte, indiquant la dominance d'un profil de type vibron, capable de dégrader les macromolécules.

Le 9/5 la diversité spécifique atteint son point le plus bas (fig. 5). Deux profils se partagent la dominance : un de type vibron et un de type pseudomonade.

. La troisième période de l'évolution planctonique (10/5 au 16/5) est caractérisée par une augmentation de la diversité du phytoplancton et l'apparition de zooplancton. La charge

énergétique continue de diminuer, indiquant un mauvais état physiologique des populations phytoplanctoniques et probablement un apport de matériel biologique mort. Le système s'achemine vers un stade III de développement planctonique (Dinoflagellés, Tintinnides, Rotifères).

La population bactérienne reflète, dans ses potentialités métaboliques, la richesse du milieu en matériel organique non dégradé : IME élevé, IMU plus faible (sensiblement égal à celui de départ), versatilité nutritionnelle et écart type de l'IME également élevés.

Le 10/5 la diversité devient plus forte. Pendant cette période nous observons un peuplement partagé entre des profils de type vibron et des profils de type pseudomonade. Une alternance quotidienne a pu être constatée.

Le 13/5, dernier jour du plateau de la chlorophylle a, et jour où la charge énergétique est la plus faible, on assiste dans la population bactérienne aux mêmes phénomènes que ceux du 8/5 : augmentation de l'IME, chute de l'IMU, chute de la diversité. Les phénomènes sont cependant moins nets, probablement pour plusieurs raisons. Tout d'abord, le type de population bactérienne adaptée à ce type de situation est déjà en place depuis le 7/5 ; par ailleurs, l'apparition de nouvelles espèces planctoniques, et en particulier de zooplancton, avec leurs microflores spécifiques, interfère avec la population présente dans le bassin.

En fin d'expérience, bien que la dominance soit toujours partagée entre pseudomonades et vibrions, on constate un retour vers les conditions initiales en ce qui concerne l'équipement enzymatique des souches avec toutefois des valeurs plus élevées.

CONCLUSION

Les premiers résultats de cette étude permettent de préciser certaines relations entre les populations bactériennes et algales.

Toute variation quantitative importante de la population planctonique entraîne une augmentation de la population bactérienne, particulièrement marquée lors du déclin de la population planctonique.

Lorsque à une biomasse planctonique stabilisée correspond une succession de populations algales, la microflore bactérienne reflète ces changements par une évolution de sa structure qualitative et de ses potentialités métaboliques.

Les composantes des populations bactériennes associées à une poussée phytoplanctonique de printemps se distinguent par plusieurs caractères morphologiques et enzymologiques de celles que l'on peut isoler d'un bloom automnal.

A un milieu extérieur stabilisé, quel que soit son niveau trophique, correspond une population bactérienne diversifiée et peu spécialisée. A un changement physique, chimique ou biologique de ce milieu extérieur la population bactérienne répond par une réduction de la diversité et par une tendance à la spécialisation traduisant un état de déséquilibre. Cet état de la population bactérienne est fugace.

Les cinétiques d'évolution des deux populations, planctoniques et bactériennes, sont similaires. Dans le cas d'une évolution rapide et massive des populations algales (ECOTRON I) correspond un changement immédiat et important des constituants de la microflore bactérienne. Par contre, lorsque l'évolution des populations planctoniques sont étalées dans le temps et de faible amplitude, les réponses des microflores bactériennes sont progressives et peu marquées (ECOTRON II).

Les conclusions précédentes montrent que la participation des populations bactériennes dans les processus de production planctonique ne pourra être évaluée que dans la mesure où l'on disposera des données obtenues dans des conditions expérimentales différentes de saisons et de structure de populations planctoniques.

BIBLIOGRAPHIE

- BERLAND B., BIANCHI M., MAESTRINI S. - 1969 - Etude des bactéries associées aux algues marines en culture. I. Détermination préliminaire des espèces. Mar. Biol. 2 : 350-355.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y. - 1972 - Etude des relations algues-bactéries du milieu marin : possibilité d'inhibition des algues par les bactéries. Téthys, 4 : 339-348.
- BERLAND B., BONIN D., MAESTRINI S. - 1974 - Etude expérimentale de l'influence de facteurs nutritionnels sur la production du phytoplancton de Méditerranée. Thèse doct. Etat, Univ. Aix-Marseille II, 239 p.
- BERLAND D.R., BONIN D.J., DURBEC J.P., MAESTRINI S.Y. - 1976 - Bactéries hétérotrophes aérobies prélevées devant le delta du Rhône. III. Utilisation potentielle de différents substrats organiques comme source de carbone. Hydrobiologia. 50,1 : 3-10.
- BIANCHI A. - 1971 - Ecologie et taxonomie des bactéries hétérotrophes aérobies des sédiments marins. Leur participation à la dégradation des matières organiques. Thèse doct. Etat, Univ. Aix-Marseille II, 221 p.
- BIANCHI M. - 1976 - Etude taxonomique et distribution écologique des bactéries vibrioïdes du milieu marin. Thèse doct. Etat, Univ. Aix-Marseille II, 126 p.

- BLASCO R.J. - 1965 - Nature and role of bacterial contaminants in mass culture of thermophilic Chlorella pyrenoidosa. Appl. Microbiol. 13 : 473-477.
- DAFT M.J., Mc CORD S.B., STEWART W.D.P. - 1975 - Ecological studies on algal lysing bacteria in fresh waters. Freshwat. Biol. 5 : 577-596.
- DARLAND G. - 1975 - Principal component analysis of infraspecific variation in bacteria. Applied Microbiol. 30, 2 : 282-289.
- DEVEZE L. - 1959 - Cycle biologique des eaux et écologie des populations planctoniques. Rec. Trav. St. Mar. Endoume, 25 : 1-220.
- EZURA Y., DAIKU K., TAJIMA K., KIMURA T., SAKAI M.- 1974 - Seasonal differences in bacterial counts and heterotrophic bacterial flora in Akkeshi Bay, p. 112-123. In : The effect of ocean environment on microbial activities. R.R. Colwell and R.Y. Morita ed. University Park Press, Baltimore.
- KANEKO T., COLWELL R.R. - 1973 - Ecology of Vibrio parahaemolyticus and related organisms in Chesapeake Bay. J. Bacteriol. 113 : 24-32.
- LAYCOCK R.A. - 1974 - The detrital food chain based on seaweeds. I. Bacteria associated with the surface of Laminaria fronds. Mar. Biol. 25 : 223-231.
- LICHTFIELD C.D., COLWELL R.R., PRESCOTT J.M. - 1969 - Numerical taxonomy of heterotrophic bacteria growing in association with continuous culture of Chlorella soroliniana. Appl. Microbiol. 18 : 1044-1049.
- MORITA R.Y., BURTON S.D. - 1971 - Occurrence possible significance and metabolism of obligate psychrophiles in marine waters. In : D.W. Hood (ed.), Organic matter in natural waters, p. 275-285. Int. Mar. Sci. Univ., Alaska, Publ n° 1.
- MURCHELANO R.A., BROWN C. - 1969 - Bacterial flora of some algal foods used for rearing bivalve larvae. J. Fish. Res. Bd. Can. 26 : 1760-1764.
- NIEWOLAK S. - 1971 - The influence of living and dead cells of Chlorella vulgaris and Scenedesmus obliquus on aquatic microorganisms. Polskie Arch. Hydrobiol. 18 : 43-54.
- OLIVER J.D., COLWELL R.R. - 1974 - Computer program designed to follow fluctuations in microbial populations and its application in a study of Chesapeake Bay microflora. Applied Microbiol. 28,2 : 185-192.
- OPPENHEIMER C.H., ZOBELL C.E. - 1952 - The growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. J. mar. Res. 11 : 10-18.

- PODAMO J. - 1972 - Relation entre des populations successives de phytoplancton et de bactéries hétérotrophes dans le bassin de chasse d'Ostende (Belgique) en 1971. Ann. Soc. r. Zool. Belg. 102, 3 : 135-142.
- PRIEUR D., LE ROUX S. - 1975 - The comparative growth of some algal populations and their associated bacteria in laboratory cultures. 10th European Symposium on Marine Biology. Ostend. Belgium. Sept. 17-23. 1 : 345-355.
- RIEGER M. - 1976 - Investigations on the relationships between algal blooms and bacterial populations in the Schlei Fjord (Western Baltic Sea). Heldolander Wiss. Meeresunters. 28 : 1-18.
- ROMANO J.C., LABORDE P. - 1977 - Filtration et extraction in situ des adénosines -5'- phosphate (ATD, ADP, AMP) du matériel particulaire de l'eau de mer. Téthys, 8 : n° 2.
- SHANNON C.E. - 1948 - A mathematical theory of communication. Bell. Syst. Techn. J. 27 : 379-423.
- SIEBURTH J. Mc N. - 1968 - Observation on bacteria planktonic in Narragansett Bay, Rhode Island ; a résumé. Bull. Misaki mar. Biol. Institute Kyoto University, 12 : 49-64.
- SIMIDU U., ASHINO K., KANEKO E. - 1971 - Bacterial flora of phyto and zooplankton in the inshore water of Japan. Canadian J. of microbiol. 17,9 : 1157-1160.
- SIMIDU U., KANEKO E., TAGA N. - 1977 - Microbiological studies of Tokyo Bay. Microbial Ecol., 3 : 173-191.
- SOKAL R.R., MICHENER D. - 1958 - A statistical method for evaluating systematic relationships. Univ. Kansas Sci. Bull. 38 : 1409-1438.
- STEVENSON L.H., MILLWOOD C.E., HEBELER B.M. - 1974 - Aerobic, heterotrophic bacterial populations in estuarine water. In : The effect of the ocean environment on microbial activities. R.R. Colwell and R.Y. Morita Ed. University Park Press. Baltimore, p. 268-285.
- STEWART J.R., BROWN R.M. - 1969 - Cytophaga that kills or lyses algae. Science (N.Y.), 164 : 1523-1524.
- TAGA N., MATSUDA O. - 1974 - Bacterial population attached to plankton and detritus in seawater, p. 433-448. In : The effect of the ocean environment on microbial activities, R.R. Colwell and R.Y. Morita Ed. University Park Press, Baltimore.
- TANAKA N., NAKANISHI M., KADOTA H. - 1974 - Nutritional interrelation between bacteria and phytoplankton in a pelagic ecosystem, 495-509. In : The effect of the ocean environment on microbial activities, R.R. Colwell and R.Y. Morita Ed. University Park Press. Baltimore.

- TAUVERON P. - 1976 - Etude écologique et taxonomique des bactéries hétérotrophes aérobies dans un bassin d'élevage de mollusques bivalves. Bull. Observatoire de la Mer, 3 : 1-106.
- THOMAS P., DAUMAS R. - 1970 - Contribution à l'étude de Dunaliella salina en cultures bactériennes : nutrition et composition. Téthys, 2 : 19-28.
- TRAVERS M. - 1971 - Diversité du microplancton du Golfe de Marseille en 1964. Marine Biol. 8 : 308-343.
- TRENTHAM J.N. - 1976 - Fluctuations of some physiological characteristics of an aquatic bacterial community. Journ. of the Tennessee Acad. of Sci., 51,1 : 11-13.
- VELA G.R., GUERRA C.N. - 1966 - On the nature of mixed cultures of Chlorella pyrenoidosa Tx 71105 and various bacteria. J. gen. Microbiol. 42 ; 123-131.

ECOTRON I

DATE PRELEVEMENT	IME %	ECART TYPE EXOENZYMES	P. C. %	IMU %	ECART TYPE SUBSTRATS
27/4	40	37	94	36	16
29/4	43	25	79	40	13
02/5	41	35	97	44	21
04/5	44	33	100	52	19
07/5	41	38	88	48	7
08/5	66	31	85	37	12
09/5	69	33	82	45	17
10/5	56	43	91	38	22
11/5	64	44	85	41	20
13/5	70	42	88	31	19
16/5	52	46	97	41	22

Tableau 1 . Différents indices mathématiques exprimant l'activité catabolique potentielle des populations bactériennes des différents prélèvements de l'expérience ECOTRON I.

IME : indice moyen de présence des exoenzymes testés.

P.C. : potentialités cataboliques ou pourcentage des substrats organiques utilisés par, au moins, une des souches du prélèvement.

IMU : indice moyen d'utilisation des substrats carbonés testés.

ECOTRON II

DATE PRELEVEMENT	IME %	ECART TYPE EXOENZYMES	P. C. %	IMU %	ECART TYPE SUBSTRATS
24/10	32	41	89	49	32
26/10	29	16	100	42	23
28/10	39	29	96	48	31
30/10	16	12	100	32	18
01/11	11	15	100	51	22
03/11	11	10	98	45	17
05/11	12	12	100	47	18
07/11	22	28	96	56	22
09/11	16	16	96	33	15
10/11	20	16	88	30	17
12/11	21	17	98	30	17
14/11	20	15	96	43	21
16/11	11	11	93	48	19
18/11	19	16	89	39	17
20/11	10	10	87	26	14
22/11	20	16	93	45	22
24/11	27	20	96	47	22

Tableau 2. Différents indices mathématiques exprimant l'activité catabolique potentielle des populations bactériennes des différents prélèvements de l'expérience ECOTRON II.

IME : indice moyen de présence des exoenzymes testés.

P.C. : potentialité catabolique ou pourcentage des substrats organiques utilisés par, au moins, une des souches de prélèvements.

IMU : indice moyen d'utilisation des substrats carbonés testés.

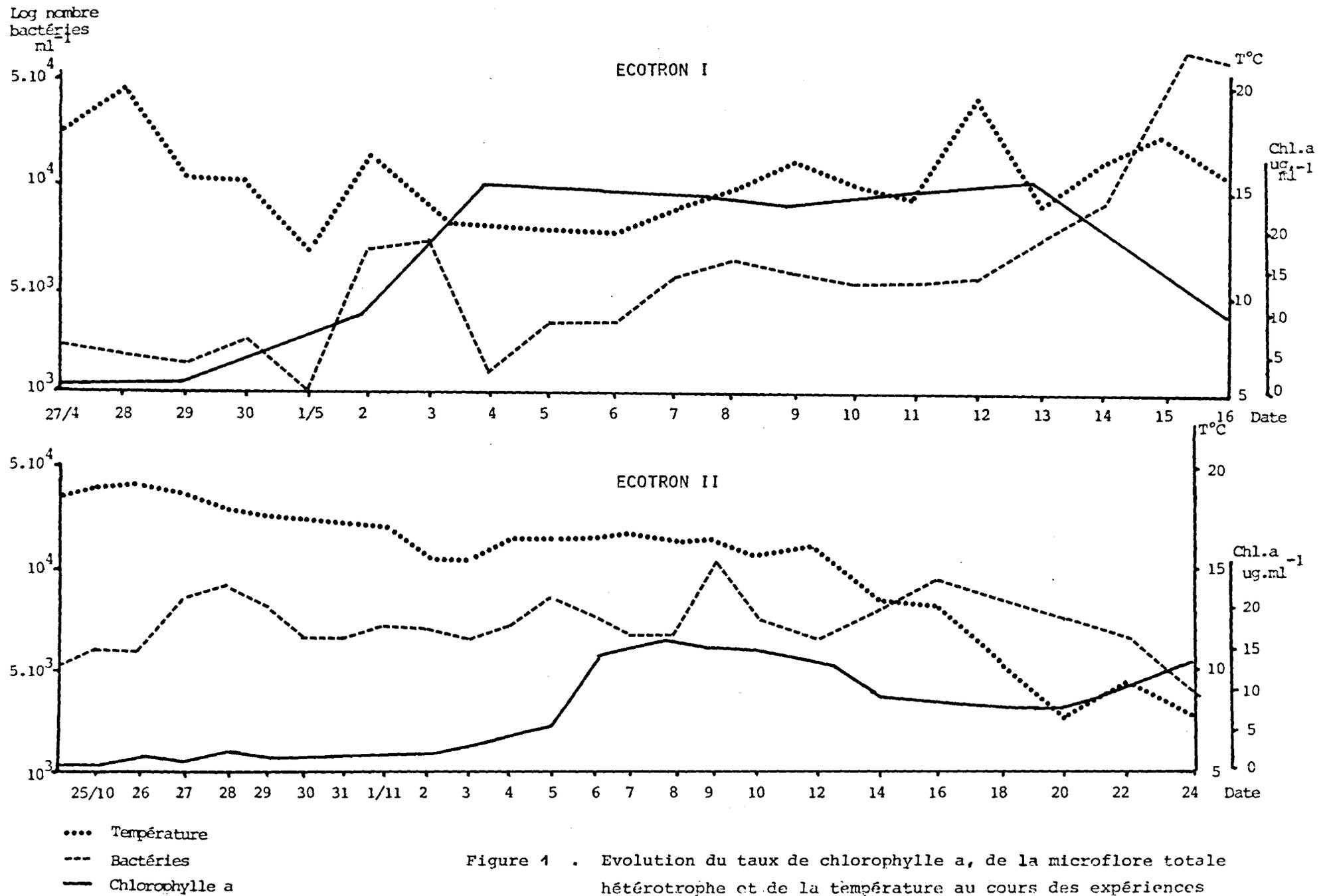
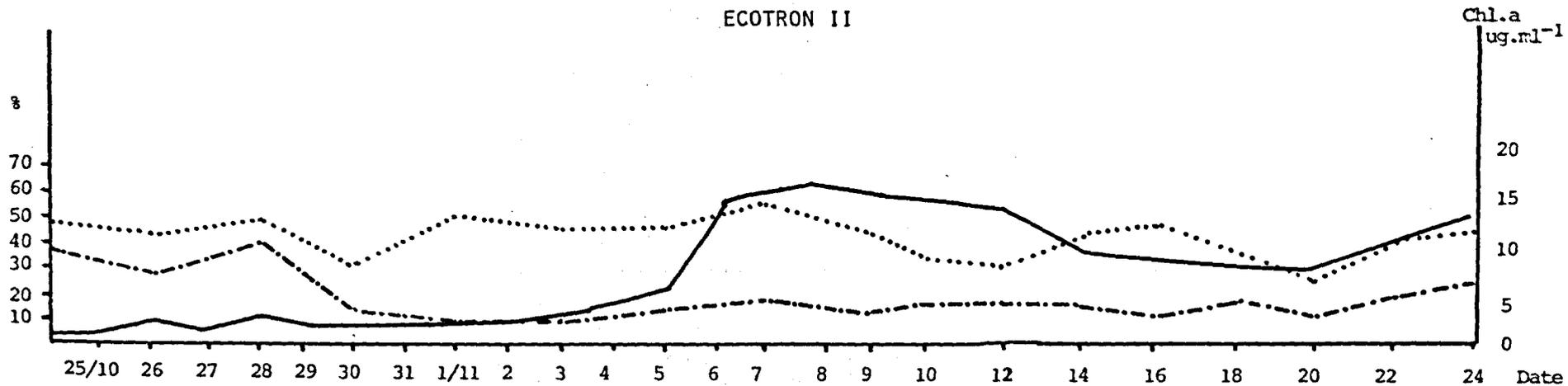
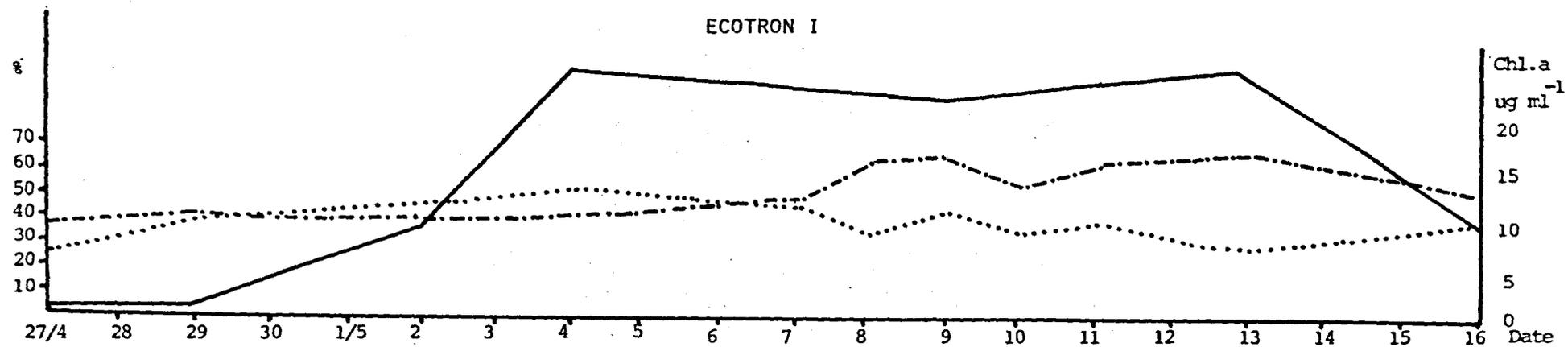


Figure 4 . Evolution du taux de chlorophylle a, de la microflore totale hétérotrophe et de la température au cours des expériences Ecotron I et Ecotron II.



— Chlorophylle a
 - - - Indice moyen de présence d'exoenzymes (IME)
 Indice moyen d'utilisation de substrats carbonés (IMU)

Figure 2 . Evolution du taux de chlorophylle a, des indices moyens de présence d'exoenzymes (IME) et des indices moyens d'utilisation de substrats carbonés.

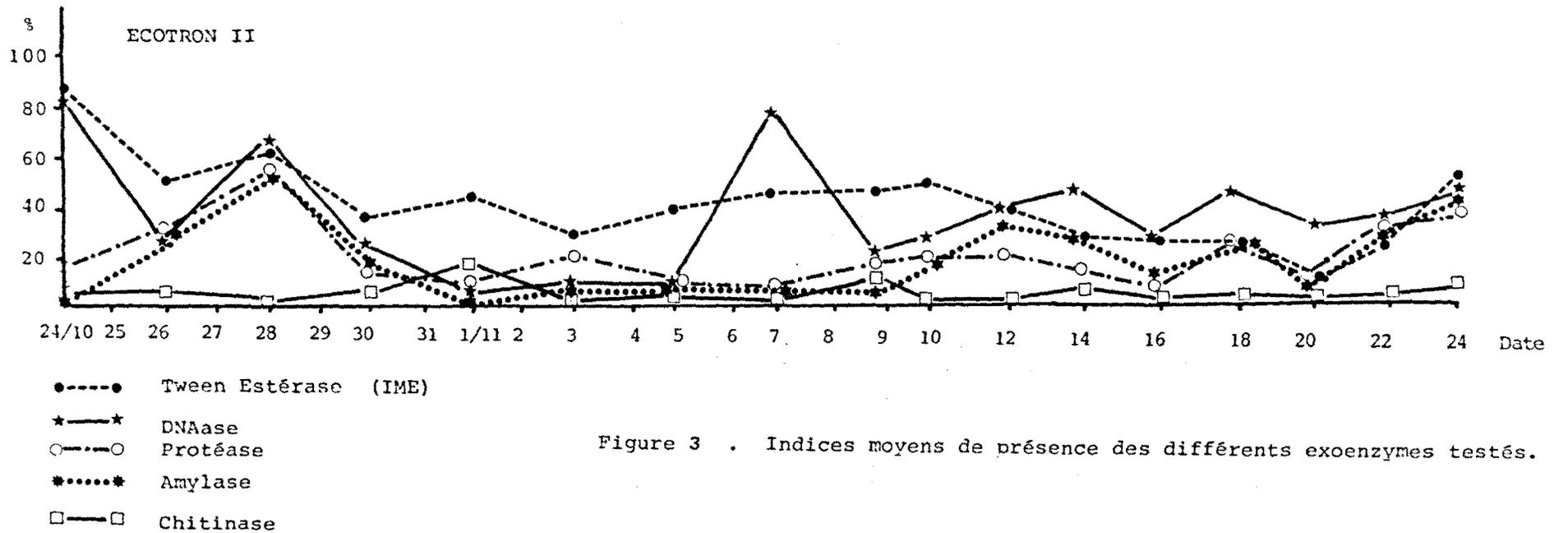
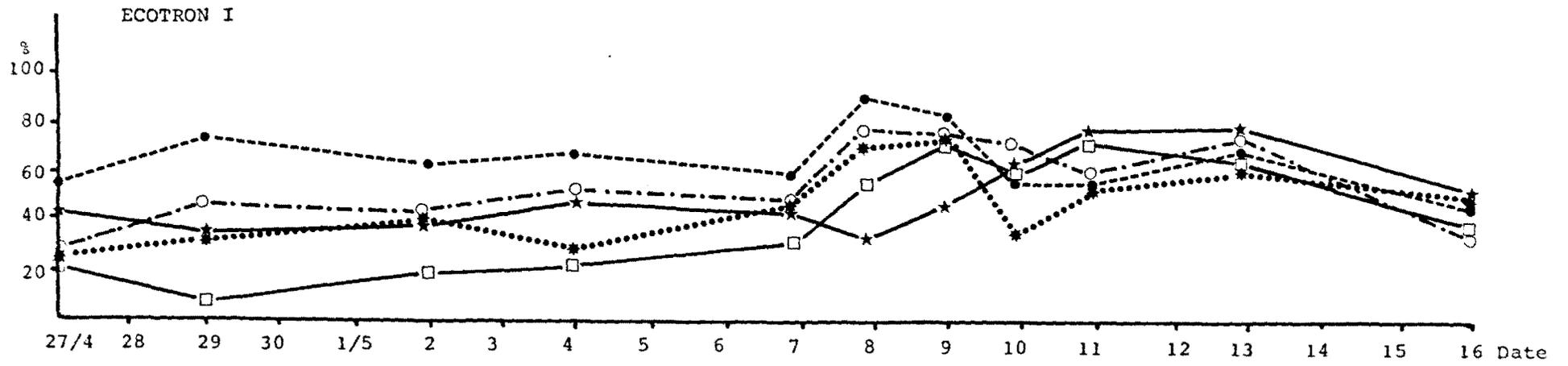


Figure 3 . Indices moyens de présence des différents exoenzymes testés.

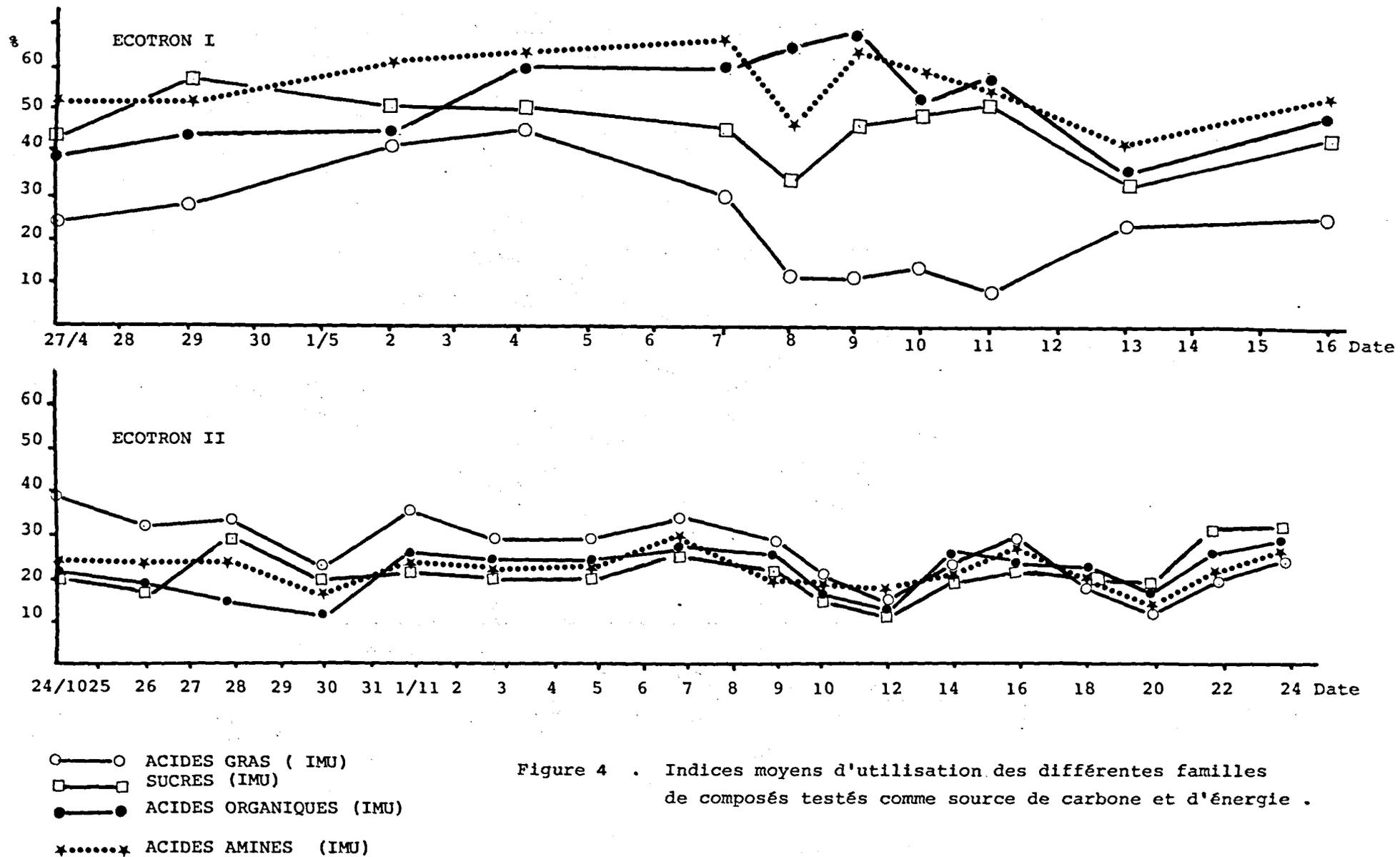


Figure 4 . Indices moyens d'utilisation des différentes familles de composés testés comme source de carbone et d'énergie .

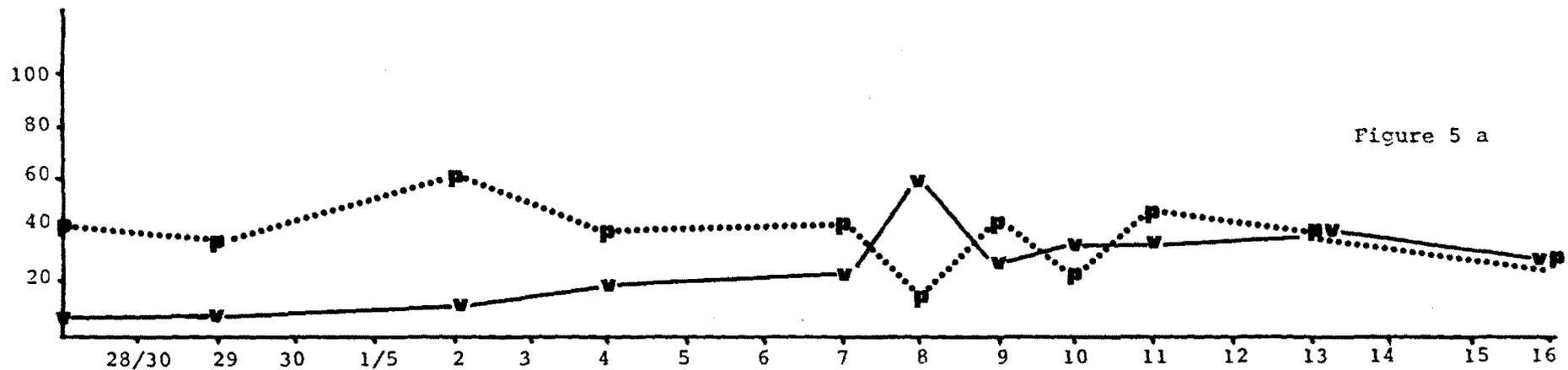


Figure 5 a

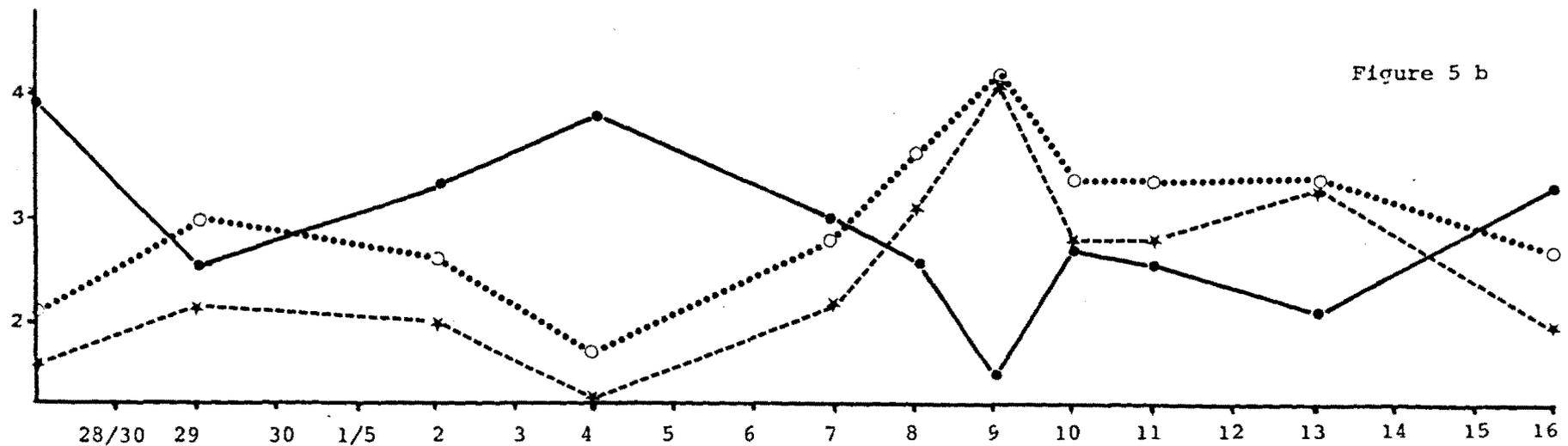
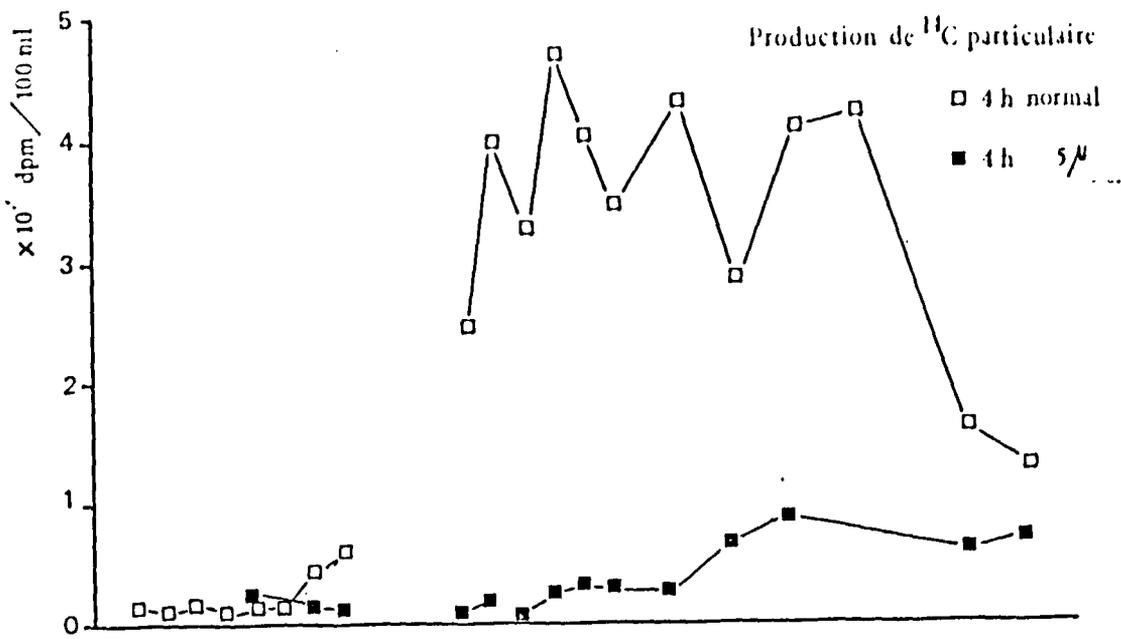


Figure 5 b

Figure 5 a : Evolution, en pourcentage de fréquence, des principaux groupes bactériens (pseudomonades : p.....p ; vibrios : v——v) .

Figure 5 b : Evolution des indices établis à partir des 'profils bactériens écologiques' : indice de Shannon (—●—) dominance Δ_1 (----*) et Δ_2 (.....) .



DATES .24.25.26.27.28.29.30, octobre
 novembre. 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9.10.11.12.13.14.15.16.17.18.19.20.21.22.23.24.

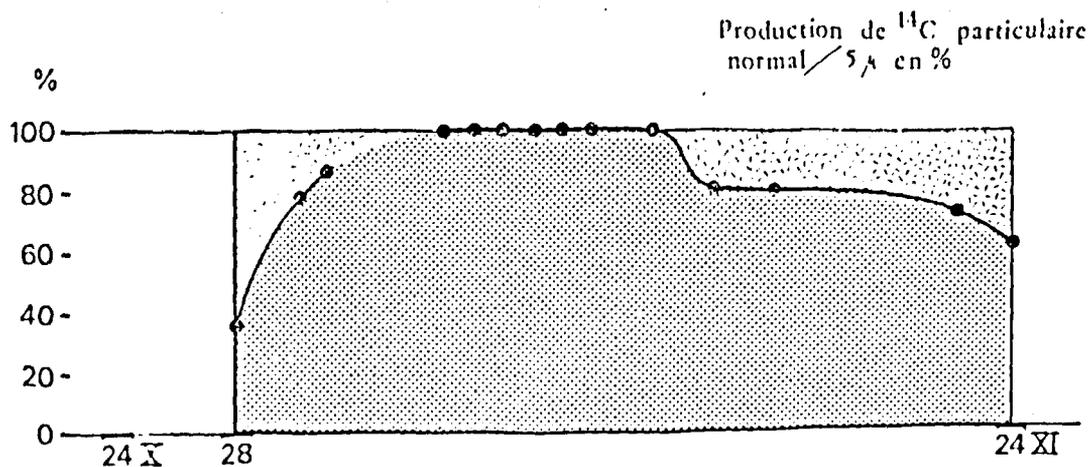
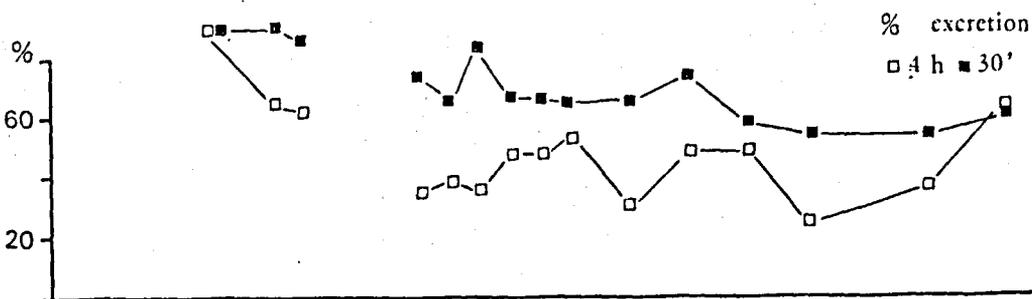
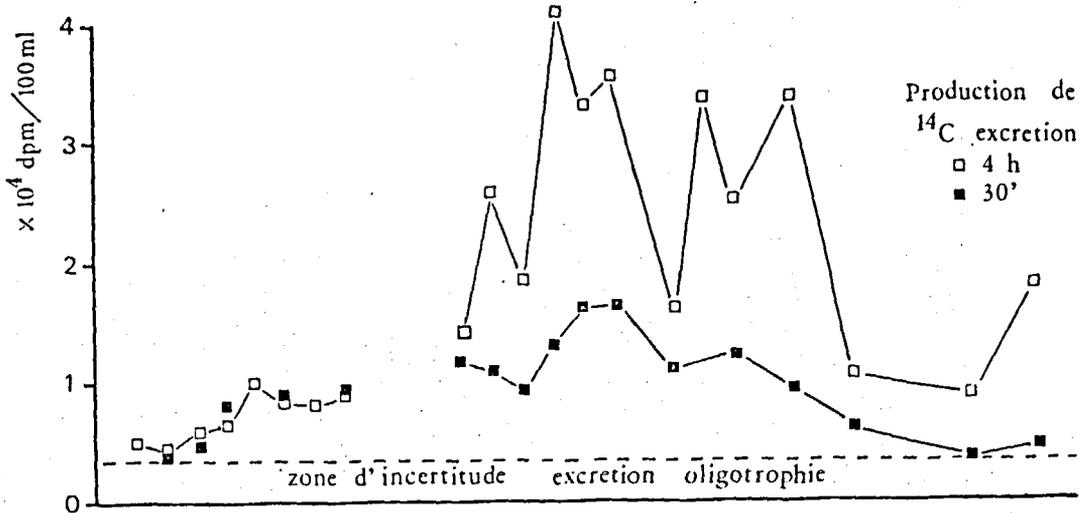
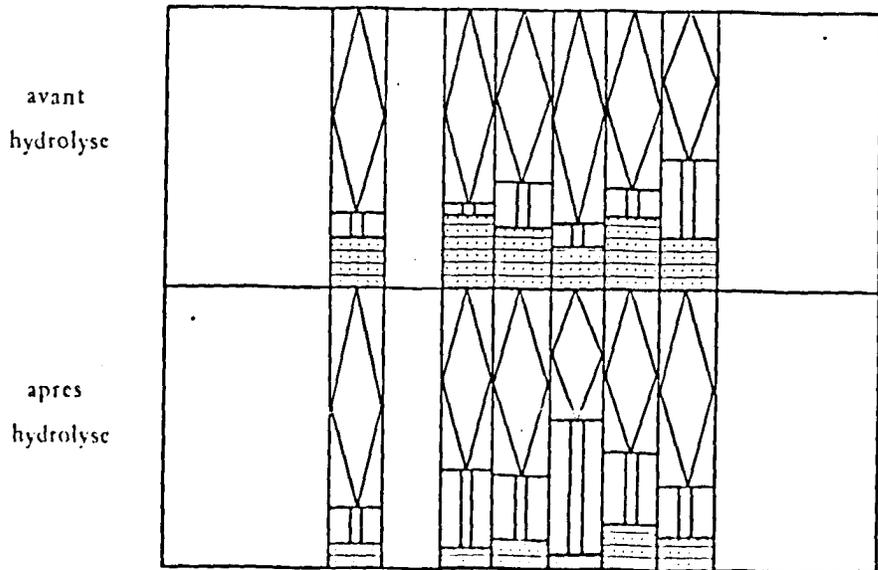
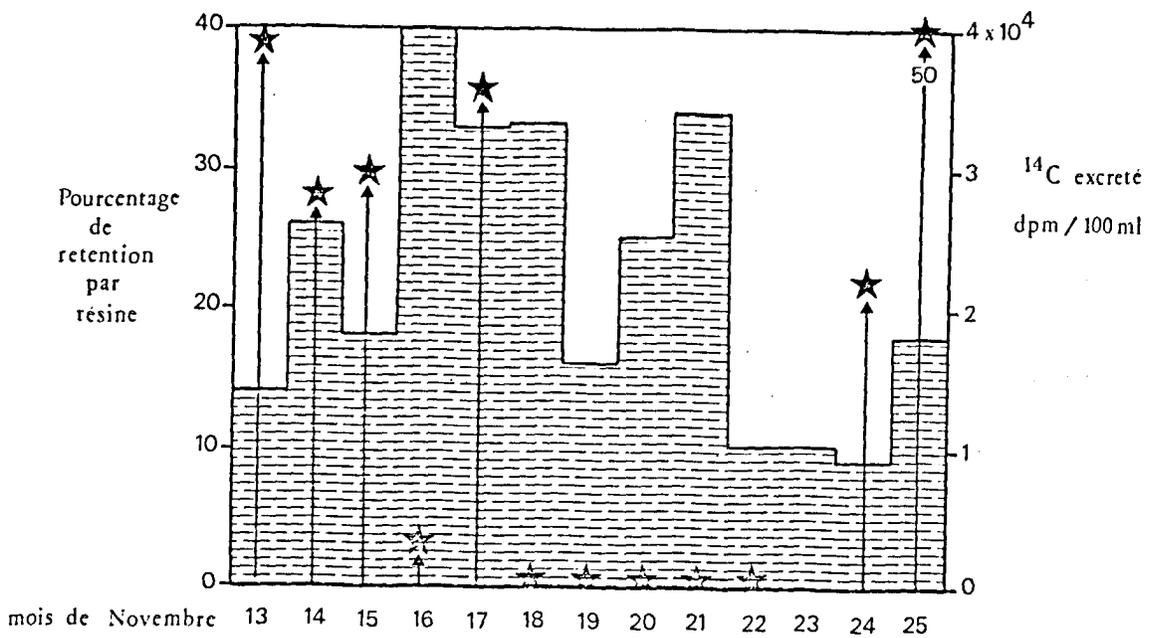
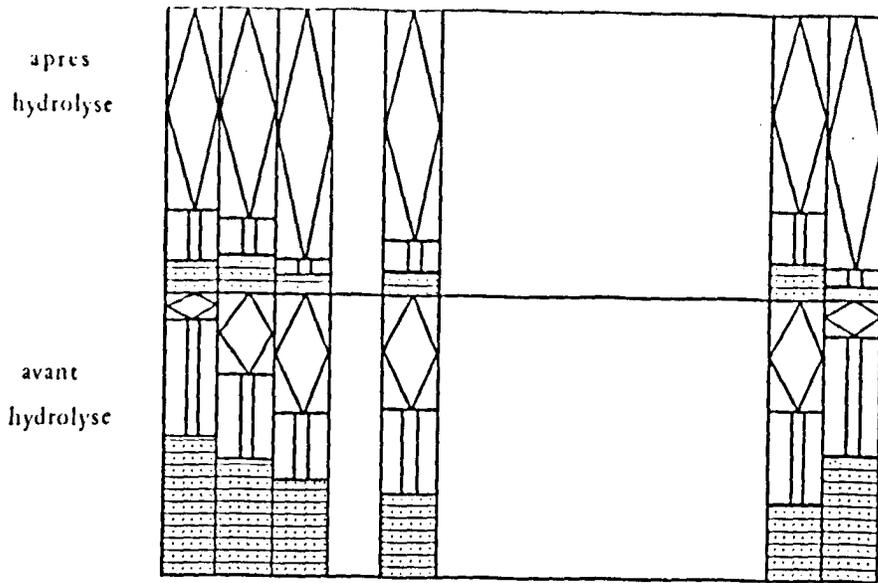


Figure n° 2



excretats dpm/100 ml
 excretats %fraction neutre
 excretats %fraction acide
 excretats %fraction basique

★ ↑ excretats % retenu par resine D

Communication : M. BIANCHI & Y. MARTIN. Structure et physiologie des populations bactériennes dans les bassins de culture.

Q: TROUSSELLIER : Pensez-vous que les profils physiologiques à partir desquels vous avez calculé des indices de diversité sont des unités de référence assez stables pour permettre ce calcul ?

R: BIANCHI : Ces profils tiennent compte de la morphologie, des types physiologiques et de la réaction des bactéries à 5 ou 6 exoenzymes ainsi qu'à 33 substrats carbonés dans un cas et 55 dans l'autre. On détermine ainsi des individus moyens d'un groupe.

Q: TROUSSELLIER : Vous n'avez pas trouvé de populations Gram +. Avez-vous fait des prélèvements en hiver, ce qui aurait permis, peut-être de les mettre en évidence?

R: BIANCHI : L'expérience d'automne a été caractérisée par une période assez froide pendant laquelle nous avons trouvé des populations psychrophiles. Dans le bassin expérimental les concentrations en phytoplancton sont plus élevées que dans le milieu naturel. Les bactéries Gram + sont probablement inhibées par les populations algales.

Q: TROUSSELLIER : Comment avez-vous fixé la taille de l'échantillon minimum à prélever dans les populations étudiées ?

R: BIANCHI : En principe il faudrait prendre 30 individus par échantillon. A cause de l'importance du travail, nous nous sommes limités à 20 25 individus par échantillon.

Q: CAUMETTE : Est-ce que vous n'avez utilisé que le milieu de ZoBell pour sélectionner les germes ?

R: BIANCHI : Nous avons utilisé plusieurs milieux, mais le ZoBell nous sert de référence.