

42

INTERACTIONS ENTRE LES BACTÉRIES ET LES ALGUES DANS UNE CULTURE CONTINUE DE PHYTOPLANCTON NATUREL SOUMISE AUX CONDITIONS EXTÉRIEURES

M. GAUTHIER*, Y. MARTIN**, P. LELONG**, et V. BREITTMAYER*

* INSERM U.303, 1 avenue Jean Lorrain, 06300 NICE, (FRANCE)

** Fondation Océanographique Ricard, Ile des Embiez, Le Brusç, 83140 SIX-FOURS-LES-PLAGES (FRANCE)

RÉSUMÉ - Au cours d'une expérience de culture continue de phytoplancton marin en grand volume soumise aux conditions extérieures, des tests microbiologiques et biochimiques ont été effectués pour mettre en évidence la production de substances antibactériennes et antialgales par les algues unicellulaires. De nombreux paramètres ont été mesurés pour caractériser la croissance de ces algues (qualitativement et quantitativement) et des bactéries hétérotrophes aérobies. Les inhibiteurs synthétisés par les algues ont été recherchés dans l'eau du bassin expérimental et dans la biomasse à différents stades de la culture, par l'intermédiaire de bioessais vis-à-vis de trois groupes de bactéries tests (pseudomonadacées, vibrionacées, germes telluriques) et de plusieurs souches d'algues. Les résultats, dont l'interprétation reste complexe, montrent que :

- la population phytoplanctonique a évolué en deux phases successives distinctes, à population algale différente : le passage de la phase I (instable) à la phase II (stable) pouvait être en partie la conséquence d'une activité auto-inhibitrice des espèces ;

- la population bactérienne a également subi des fluctuations importantes qui peuvent être la conséquence de l'activité des substances inhibitrices algales.

Une co-régulation des deux populations pourrait être envisagée par la voie ectocrine.

Mots clés : relations bactéries-phytoplancton, eau de mer, ectocrines, antibiose.

ABSTRACT - During an experimental continuous culture of natural marine phytoplankton in environmental conditions, microbial and biochemical tests were performed in view of studying the production of antibacterial and antialgal substances by unicellular algae. Some parameters were further monitored to characterize bacteria and phytoplankton growth. The presence of inhibitors of algal origin was studied both in the water and in the algal biomass at different phases of the culture, through bioassays performed with bacteria (marine pseudomonads and vibrios, and telluric strains) and several algal strains. Interpretation of the results is difficult. Two successive phases appeared during the growth of phytoplankton, with two different algal populations. The unsteady population of phase I was replaced during phase II by a stable one with a higher number of species; this might be due to the auto-inhibition of algae. Heterotrophic bacteria showed similar fluctuations which could be the consequence of algal ectocrines.

The regulation of both bacterial and algal populations could be considered through ectocrines production of algal origin.

Key words : bacteria-phytoplankton relationships, seawater, ectocrines, antibiosis.

INTRODUCTION

Akehurst (1931) a été vraisemblablement le premier à suggérer l'existence de relations non trophiques entre les micro-organismes des milieux naturels par l'intermédiaire de substances organiques dissoutes. C'est cependant Lucas (1938, 1947, 1955, 1961) qui a élargi ce concept à l'ensemble des organismes marins, proposant le terme de "métabolites

externes" ou "ectocrines", pour ces substances médiatrices. De nombreux auteurs ont, par la suite, apporté leur contribution à la connaissance de ces interactions.

Dans le domaine de la microbiologie marine, une distinction a rapidement été faite entre les interactions algues-algues (Maestrini et Bonin, 1981b) et les relations bactéries-bactéries ou bactéries-algues (Aubert *et al.*, 1981).

Pour les algues, la médiation chimique a été essentiellement invoquée comme facteur influant sur la compétition entre les espèces et leur succession dans le temps (Smayda, 1963). La réalité du phénomène *in situ* n'est toutefois reconnue, par extension, que dans les eaux eutrophes où les densités cellulaires sont élevées, car la presque totalité des données expérimentales dont on dispose a été acquise à l'aide de cultures unispécifiques en milieu non renouvelé, dans lesquelles les ectocrines peuvent s'accumuler. La littérature compte peu de contributions suggérant l'influence de ces ectocrines algales dans les populations phytoplanctoniques naturelles, même dans les zones eutrophes (Kutt et Martin, 1975 ; Gauthier *et al.*, 1975 ; Uchida, 1977 ; Keating, 1977, 1978 ; Honjo *et al.*, 1978) et seuls les travaux de Keating (1978) ont apporté la démonstration d'une inhibition directe d'algues isolées du milieu par des eaux lacustres naturelles.

Les relations algues-bactéries ont également fait l'objet de nombreux travaux (Sieburth, 1968 ; Aubert *et al.*, 1981). Presque tous concernent les activités inhibitrices développées par les algues sur les bactéries telluriques (*E. coli*, germes pathogènes pour l'homme) et seules quelques études se sont intéressées aux relations entre les algues et les bactéries du milieu marin (Rieper, 1976 ; Delucca et McCracken, 1977). De nombreuses souches d'algues planctoniques produisent effectivement *in vitro* un ou plusieurs antibiotiques (Aubert *et al.*, 1981) et diverses bactéries marines sont douées de propriétés antialgales (Berland *et al.*, 1972). Peu d'éléments significatifs ont cependant été apportés pour confirmer la présence *in situ* de ces ectocrines à des taux efficaces.

Au cours de cette étude, nous avons profité d'un essai de culture en continu de phytoplancton naturel, en grand volume et dans des conditions extérieures (expériences "ECOTRON", développées sur l'île des Embiez, littoral méditerranéen français) pour chercher à mettre en évidence la production d'ectocrines inhibitrices par la biomasse algale, d'en étudier la séquence d'apparition et d'analyser, dans la mesure du possible, les éventuelles conséquences de cette production sur les peuplements bactériens et algaux. Le système étudié, modérément eutrophe, correspondait à une situation nutritive intermédiaire entre celles des cultures généralement pratiquées en laboratoire et celles rencontrées dans les conditions naturelles.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Conditions expérimentales générales :

L'expérience a été réalisée dans un bassin extérieur et ouvert en béton d'environ 35 m³, alimenté en continu par l'eau de la lagune du Brusco de manière à assurer un renouvellement en 46 heures (soit un débit d'environ 13 l.mn⁻¹). Les détails de cette installation ont été fournis par ailleurs (Riva et Vicente, 1978 ; Lelong *et al.*, 1980). A son arrivée dans le bassin, l'eau a été enrichie en continu par des engrais azotés (NaNO₃, 39 µgat.l⁻¹N), phosphatés (Na₂HPO₄, 4,2 µgat.l⁻¹P) et en silicates (SiO₂, 39 µgat.l⁻¹Si). Le brassage des eaux a été assuré par injection d'air au fond du bassin. Ce système fonctionnait donc à la manière d'un fermentateur de grand volume, avec cependant un apport permanent d'inoculum (micro-organismes de la lagune). De ce point de vue, la culture s'apparentait en fait plutôt à un "upwelling".

Analyse de la population phytoplanctonique :

Le développement du phytoplancton a été évalué par la mesure de la concentration en chlorophylle *a*, selon la technique préconisée par le Groupe de Travail 17 du SCOR-UNESCO (Anonyme, 1966). Le dénombrement et l'identification des principales algues unicellulaires ont été effectués microscopiquement selon la méthode d'Utermöhl (1958). Pour certains groupes d'algues dont l'identification était plus difficile (*Navicula*, *Chaetoceros*), une étude détaillée a été faite, au microscope à contraste interférentiel, en identifiant 300 cellules prises au hasard, ce qui a permis d'évaluer, dans chaque échantillon prélevé, la répartition des espèces au sein de ces genres. Les espèces de petite taille (essentiellement des flagellés verts) ont été regroupées sans détermination.

Analyse des populations bactériennes hétérotrophes :

Pour chaque échantillon d'eau, le nombre total des bactéries hétérotrophes a été estimé sur milieu de Zobell, et celui des vibronacées sur milieu TCBS (Difco), après dilution adéquate de chaque échantillon. Le nombre des pseudomonadacées a été évalué indirectement, à partir des colonies développées sur milieu de Zobell, par isolement au hasard de 30 souches pures par échantillon (Bianchi et Bianchi, 1982) et recherche d'un certain nombre de caractères phénotypiques discriminants selon le schéma de Shewan *et al.* (1960) modifié par Gibson *et al.* (1977).

Mise en évidence des substances antibactériennes :

Tests d'antibiose :

Ils ont été effectués au début de l'expérience (To) puis après 2, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, et 30 jours de culture. Ils ont concerné :

- les antibiotiques solubles (ABS) dans l'eau du bassin, filtrée, puis concentrée 8 fois (limite de précipitation) sous vide (40°C) et testée par comparaison avec les résultats obtenus avec une eau de mer artificielle (Lyman et Fleming, 1940) de même salinité traitée de la même manière ;

- les antibiotiques "particulaires" (ABP) liés aux cellules planctoniques, recherchés :

. dans les cellules, recueillies par filtration sur membranes (acétate de cellulose) (pores 0,45 µm) (2 à 10 litres d'eau par membrane), conservées à 30°C, et testées directement par dépôt d'une fraction de membrane sur les milieux gélosés utilisés pour les tests d'antibiose. Il s'agit essentiellement d'antibiotiques hydrosolubles (ABPH). Le poids sestonique de cellules sur les membranes a été évalué par rapport à celui d'une membrane neuve humidifiée par filtration d'eau de mer pure.

. dans les extraits lipidiques (ABPL) de ces cellules : une quantité définie de membranes portant les cellules provenant de la filtration de 10 litres d'eau du bac, a été extraite par le mélange chloroforme-méthanol (1:1) (3 x 50 ml pour 10 grammes de membranes). Les fractions organiques ont été recueillies, filtrées, desséchées sous vide (40°C), pesées puis remises en solution dans 2 ml de mélange chloroforme-méthanol. Des disques de cellulose (diamètre 9 mm) ont été imprégnés d'une quantité connue d'extrait (100 µl), desséchés et testés.

Les propriétés inhibitrices des différents matériaux étudiés (concentrats d'eau, cellules sur membranes, extraits lipidiques) ont été évaluées par la méthode des antibiogrammes sur milieu gélosé (Marine Agar Difco pour les bactéries marines, Mueller-Hinton Mérieux pour les bactéries terrestres), vis-à-vis des 9 germes-tests suivants, provenant de la Collection de l'Institut Pasteur (CIP), de l'American Type Culture Collection (ATCC), de la Czechoslovak Collection of Microorganisms (CCM) ou du Centre d'Études et de

Recherches de Biologie et d'Océanographie Médicale (CERBOM) (6 marines, 3 terrestres) : *Vibrio alginolyticus* CIP 7065, *Vibrio anguillarum* CCM 6336, *Vibrio* sp. CCM 5959, *Pseudomonas putrefaciens* CERBOM, *Pseudomonas* sp. CERBOM, *Alteromonas citrea* ATCC 29719, *Staphylococcus aureus* CIP 209 P, *Escherichia coli* CIP 2518, *Bacillus subtilis* CIP 1722.

Tests de chimiotactisme :

Ils ont été réalisés par la technique de Young et Mitchell (1973), sur les extraits aqueux des cellules totales contenues dans 10 litres d'eau du bassin vis-à-vis de *Vibrio alginolyticus*.

Chromatographie des extraits aqueux sur gel :

Elle a été réalisée sur gel Ultrogel c AcA 202 en colonne (diamètre int. 13 mm, L = 55 cm) équilibrée par du tampon TRIS-HCL 0,01 M pH 8 - NaCl 0,3M (débit : 0,6 ml par minute, échantillon appliqué : 0,5 ml). La DO de l'éluat a été mesurée en continu à 265 nm. L'étalonnage de la colonne a été réalisé à l'aide du dextran c bleu (PM 2.10⁶) et du NAD c (PM 876). L'activité antibiotique des fractions recueillies a été testée par la méthode de l'antibiogramme décrite ci-dessus, vis-à-vis de *V. anguillarum* et *P. putrefaciens*.

Mise en évidence des substances antialgales :

Tests d'inhibition :

Ils ont été effectués aux mêmes périodes de la culture et ils ont concerné les mêmes matériaux, à savoir les eaux concentrées (antialgales solubles ou AAS) et les cellules phytoplanctoniques (antialgales particulaires hydrosolubles, ou AAPH, et extraits lipidiques ou AAPL). Les antibiogrammes ont été réalisés sur milieu gélosé adapté à la culture d'algues : eau de mer artificielle (Lyman et Fleming, 1940), 1000 ml ; agar noble (Difco), 15 g ; solution ES de Provasoli (Aubert *et al.*, 1966), 20 ml. Quatre souches d'algues axènes (collection CERBOM) se développant bien sur milieu solide ont été utilisées pour ces tests: *Navicula incerta* (C172), *Phaeodactylum tricornutum* (C173), *Tetraselmis maculata* (C170) et *Dunaliella salina* (C176). L'incubation des plaques inoculées a été réalisée à 20°C, sous un éclairage de 5000 lux avec une alternance de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité pendant 10 jours.

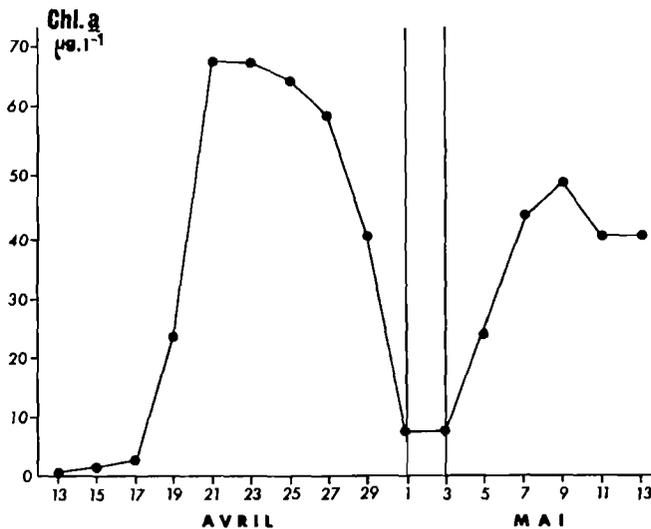


Figure 1 : Variations de la concentration en chlorophylle a dans l'eau du bassin expérimental du 13 avril au 13 mai.

RÉSULTATS :

. Croissance du phytoplancton :

Les variations de la concentration en chlorophylle *a* (fig. 1) montrent l'existence de deux phases de développement du phytoplancton pendant la période considérée:

. phase I : du 13 avril au 1^{er} mai,

. phase II : du 1^{er} mai au 13 mai (qui s'est maintenue pendant environ un mois après l'arrêt de cette étude).

Au cours de la phase I, le maximum de densité algale a été atteint le 21 avril (avec 68 mg.l⁻¹Chl.*a*). Il correspondait au développement d'un nombre restreint d'espèces de petite taille (fig. 2), à division rapide, particulièrement compétitives dans les systèmes eutrophes (Margalef, 1958, 1969, 1978 ; Sournia, 1982) et qui ont atteint des concentrations cellulaires élevées (10⁶ à 10⁸ cellules l⁻¹) : diatomées pennées surtout (*Nitzschia longissima*, *N. closterium*, *Navicula* sp.), puis diatomées centriques (*Leptocylindrus minimus*, *Lauderia borealis*). *Prorocentrum micans* était présent mais à faible concentration (2 à 3 10³ cellules l⁻¹). Dès le déclin de cette population de phase I, les ciliés se sont multipliés, puis ont lentement diminué de densité. Les dinoflagellés (Gymnodiniens et autres petites espèces non identifiées) se sont également développés en fin de phase I et au cours de l'interphase.

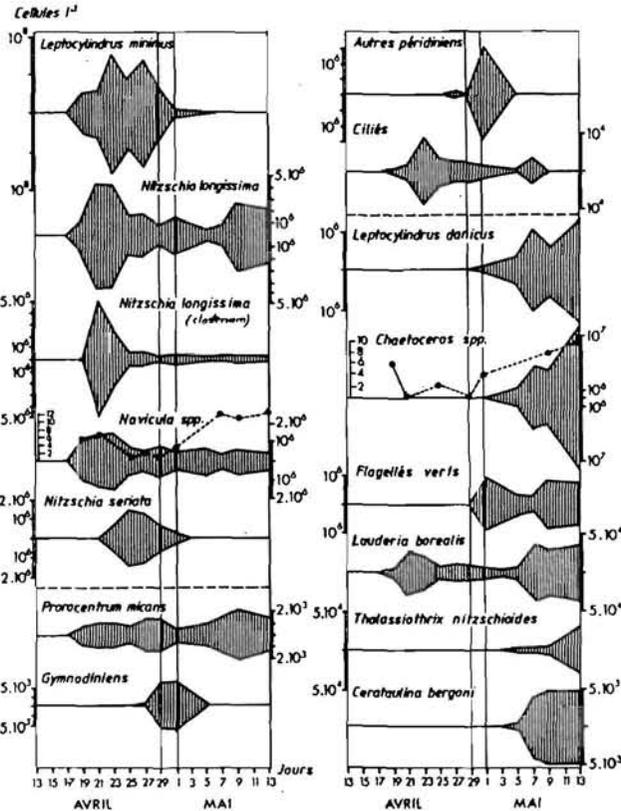


Figure 2 : Variations de la concentration cellulaire des espèces phytoplanctoniques dominantes au cours des différentes phases de la culture. Le nombre des espèces appartenant aux genres *Navicula* et *Chaetoceros* est indiqué en ordonnées à gauche du graphique correspondant à ces genres.

Au cours de la phase II, débutée le 3 mai, le maximum de densité algale a été atteint le 9 mai, à un niveau sensiblement inférieur à celui du premier "bloom" (52 mg.l⁻¹Chl.a). La population phytoplanctonique était alors très différente, plus diversifiée, avec des espèces de plus grande taille : *Leptocylindrus danicus* et divers *Chaetoceros* surtout, mais également de nombreuses autres espèces de diatomées, en nombre plus réduit. Le nombre de flagellés était également élevé (environ 10⁶ cellules l⁻¹).

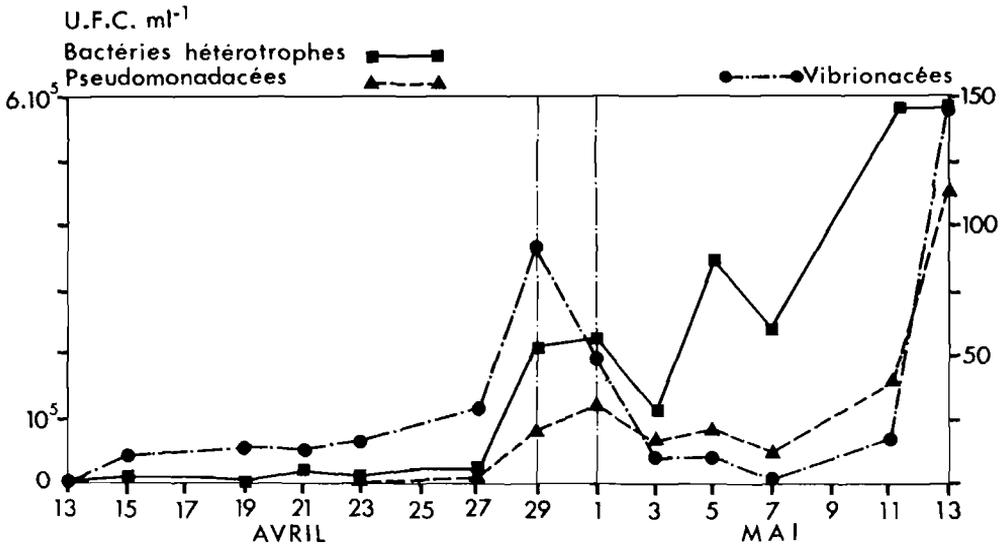


Figure 3 : Variations du nombre (unités formant des colonies) des bactéries hétérotrophes, des vibrionacées et des pseudomonadacées dans l'eau du bac expérimental du 13 avril au 13 mai.

Croissance des bactéries hétérotrophes :

On retrouve dans une certaine mesure pour ces bactéries les deux phases précédentes (fig. 3).

En phase I, le nombre des germes hétérotrophes cultivables sur milieu de Zobell est resté faible (5000 à 10000 UFC/ml) jusqu'au 27 avril, tout comme celui des vibrionacées et des pseudomonadacées. A la fin de la phase I, les trois groupes de bactéries se sont développés, modérément, vraisemblablement en raison de l'enrichissement du milieu par les substances organiques issues de la lyse de la biomasse algale, puis ont rapidement décliné dans l'interphase. Au-delà du 27 avril, la population hétérotrophe totale s'est développée à peu près régulièrement, alors que les deux autres groupes ne l'ont fait qu'à partir du 7 mai.

Production de substances antibactériennes :

Deux périodes d'activité antibactérienne, se recouvrant partiellement, ont été observées dans l'eau du bassin (inhibiteurs dissous) (fig. 4A) : l'une en fin de phase I (maximum le 27 avril), l'autre dès le début de la phase II (maximum le 3 mai). Les vibrions utilisés pour les tests n'étaient sensibles qu'aux antibiotiques libérés au cours de la première période, les pseudomonadacées et les germes terrestres l'étant plus nettement pendant la seconde.

Au cours de ces deux périodes, la biomasse algale contenait également des substances inhibitrices hydrosolubles (fig. 4B). La première période d'activité des cellules correspon-

daît à la présence d'antibiotiques dissous dans l'eau (A) ; les vibrions étant sensibles à ces inhibiteurs et présentant un chimiotactisme négatif pour ces substances. La deuxième était, par contre, décalée par rapport à l'activité de l'eau : elle correspondait néanmoins au même type d'inhibition, particulier aux *pseudomonadacées*. Le tamisage moléculaire des extraits aqueux du phytoplancton total récolté lors des deux maxima d'activité inhibitrice (29 avril : extrait A ; 11 mai : extrait M) a montré la présence de deux fractions actives dans chacun d'eux, l'une inhibant *V. anguillarum*, l'autre *P. putrefaciens*. La substance à poids moléculaire élevé inhibait le vibrion dans l'extrait A et *Pseudomonas* dans l'extrait M (fig. 5).

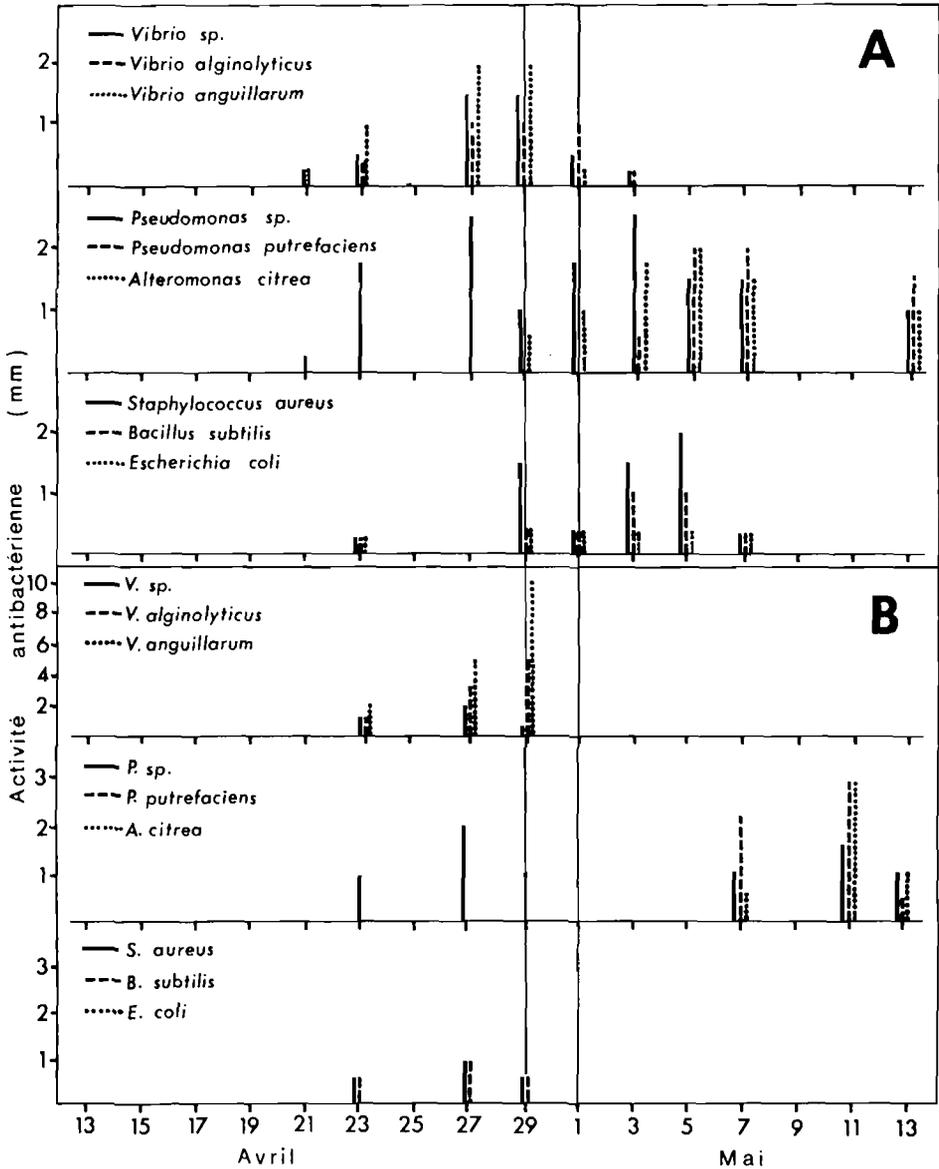


Figure 4 : Variations de l'activité antibactérienne de l'eau concentrée (A) et de la biomasse planctonique totale (B) au cours de l'expérience.

Dans la biomasse elle-même, une première période d'activité s'est développée du 19 au 29 avril (maximum le 27 avril), correspondant également à l'activité antibactérienne. Une deuxième période d'activité (du 7 au 13 mai), plus faible mais assez stable, a coïncidé avec la période d'activité antibactérienne anti-pseudomonacée.

Pour les extraits lipidiques, deux périodes d'activité antialgale ont également été observées, correspondant exactement aux deux périodes et maxima d'activité anti-*vibrio* des mêmes extraits lipidiques, avec cependant un maximum plus précoce pour la première partie.

DISCUSSION :

Quelques constatations d'ordre général doivent être commentées en premier lieu :

1. il y a bien eu production de substances antialgales et antibactériennes par la biomasse dans la culture étudiée ;
2. ces substances ne provenaient pas de la lagune du Brus : quelques tests de contrôle ont été réalisés sur l'eau pompée dans le bassin : tous étaient négatifs ;
3. il est très probable que ces ectocrines inhibitrices ont été produites par le phytoplancton. Nos observations ne le démontrent pas formellement mais deux arguments étayent cette hypothèse : la biomasse algale était très largement dominante et le cycle d'apparition et de disparition de ces substances correspondait bien à celui du phytoplancton. En outre, les données de la littérature (Aubert *et al.*, 1981 ; Maestrini et Bonin, 1981b) montrent que la production d'antibiotiques par les algues unicellulaires marines est fréquente, surtout chez les diatomées (genre *Chaetoceros* en particulier). Sur la base de ces mêmes données bibliographiques, on ne peut cependant pas exclure la participation d'autres micro-organismes comme les bactéries ou les actinomycètes, dont l'activité antibiotique est bien connue mais n'a pas été recherchée au cours de ce travail ; il paraît cependant difficile de leur attribuer une part importante dans les phénomènes observés.

A partir de ces données, il est possible de développer certaines hypothèses ou spéculations sur le rôle qu'ont pu jouer ces ectocrines dans l'évolution des populations bactériennes et phytoplanctoniques au cours de la culture.

En ce qui concerne le développement des algues, la principale question posée par ces observations est celle des causes du changement de population de la phase I (paucispécifique, algues de petite taille) à la phase II (plus diversifiée, algues plus grandes).

Du 25 avril au 1^{er} mai, certains facteurs déterminants ont profondément modifié la culture, entraînant le déclin de la population planctonique. Ces facteurs peuvent être physico-chimiques, trophiques ou biologiques. Ainsi, le refroidissement passager de l'eau et l'augmentation de la durée d'insolation du 25 au 29 avril (fig.8) ont pu influencer significativement la dynamique algale (Ryther, 1956 ; Bonin *et al.*, 1981a). La disponibilité des sels nutritifs, ainsi que l'apparition ou la disparition de substrats essentiels ont également pu modifier la succession des espèces, sans qu'il soit possible de déterminer dans quelle mesure et à quel moment. Quoi qu'il en soit, les résultats présentés ci-dessus montrent que, tout au long de la culture, les algues ont produit des substances antibactériennes et antialgales qui ont aussi pu influencer leur propre devenir et celui des autres micro-organismes par auto-inhibition ou activité allélopathique.

En ce qui concerne le développement des bactéries (fig. 3), on constate que les deux périodes de faible concentration bactérienne dans l'eau correspondaient aux phases de développement du phytoplancton (avant le 27 avril et après le 3 mai). Si les ectocrines algales ont effectivement agi sur les bactéries, l'interaction avec les vibrionacées s'est faite

par l'intermédiaire des substances dissoutes en phase I et dans l'environnement immédiat des cellules ("phycosphère", selon Bell et Mitchell, 1972) au cours de la phase II (inhibiteurs non répulsifs, hydrosolubles ou lipidiques). La faible densité des pseudomonadacées pendant une grande partie de la deuxième phase pourrait également s'expliquer par la présence d'antibiotiques dissous, essentiellement hydrosolubles, libérés par des algues lors du deuxième "bloom".

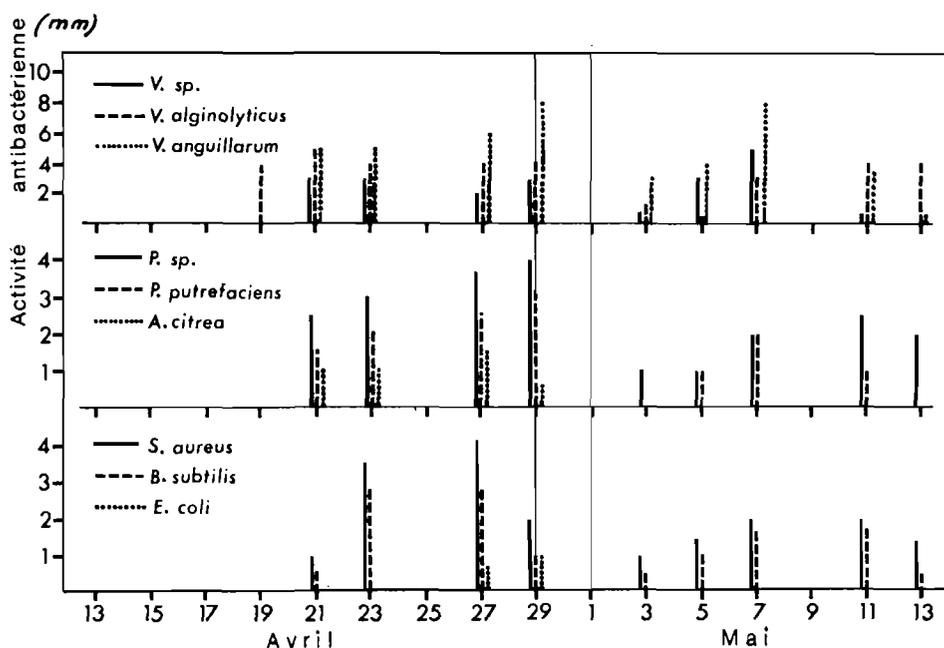


Figure 8 : Variations de la température de l'eau du bassin expérimental (●) et de la durée de l'insolation locale (▼) du 13 avril au 13 mai.

Les substances inhibitrices accumulées dans l'eau lors de la lyse de la biomasse issue du premier "bloom" n'ont aucune influence sur la population hétérotrophe au cours de l'interphase (du 29 avril au 3 mai).

On notera, par ailleurs, que les activités antibactériennes mises en évidence au cours de ce travail étaient systématiquement plus élevées vis-à-vis des germes tests marins.

Cette étude confirme donc, dans le cas bien particulier d'un système moyennement eutrophe intermédiaire entre une culture et le milieu naturel, les possibilités d'interaction entre les algues et les bactéries par la voie de substances ectocrines. Elle suggère d'une part qu'en dehors des facteurs trophiques et environnementaux, la dynamique d'une population phytoplanctonique pourrait dépendre, dans une certaine mesure, de la production de substances auto-inhibitrices ou allélopathiques par certaines espèces. Elle ne met pas en cause le rôle que jouent les facteurs nutritionnels (Maestrini et Bonin, 1981a ; Bonin et Maestrini, 1981) et hormonaux (Bonin *et al.*, 1981a, 1981b) dans la succession des espèces, mais fournit un exemple assez net de "conditionnement chimique" du milieu par la biomasse algale au sens défini par Jensen (1976). Ces ectocrines pourraient selon Button (1979), être d'importants facteurs de régulation de la chimie des éléments nutritifs en mer, en modulant leur absorption par les différentes espèces selon une séquence définie.

Il est par ailleurs possible que l'antagonisme algal ait une influence significative sur le devenir des populations bactériennes, les deux types d'organismes pouvant être inhibés par les mêmes substances. Il pourrait donc exister une certaine co-régulation des deux populations mêlant des aspects trophiques et antagonistes.

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat CNEXO-ECOTRON n°80/2245.

AKEHURST S.C., 1931. Observations on pond life, with special reference to the possible causation of swarming of phytoplankton. *J.R. Microsc. Soc.*, 51 : 237-265.

AUBERT M., AUBERT J., GAUTHIER M. et DANIEL S., 1966. Origine et nature des substances antibiotiques présentes dans le milieu marin. II. Méthodes d'études et techniques expérimentales. *Rev. Int. Oceanogr. Méd.*, 1 : 27-34.

AUBERT M., GAUTHIER M., AUBERT J. et BERNARD P., 1981. Les systèmes d'information des micro-organismes marins. *Rev. Int. Oceanogr. Méd.*, 60-61 : 231 p.

BELL W. et MITCHELL R., 1972. Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab.*, 143 : 265-277.

BERLAND B.R., BONIN D.J. et MAESTRINI S.Y., 1972. Études des relations algues-bactéries du milieu marin. Possibilités d'inhibition des algues par les bactéries. *Téthys*, 4 : 339-348.

BIANCHI M.A.G., BIANCHI A.J.M., 1982. Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. *Microbial Ecol.*, 8 : 61-69.

BONIN D.J. et MAESTRINI S.Y., 1981. Importance of organic nutrients for phytoplankton growth in natural environments : implications for algal species succession. Dans : *Physiological bases of phytoplankton ecology*. Éditeur T.Platt, *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 279-291.

BONIN D.J., MAESTRINI S.Y. et LEFTLEY J.W., 1981a. Some processes and physical factors that affect the ability of individual species of algae to compete for nutrient partition. Dans : *Physiological bases of phytoplankton ecology*. Éditeur T.Platt, *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 292-309.

BONIN D.J., MAESTRINI S.Y. et LEFTLEY J.W., 1981b. The role of hormones and vitamins in species succession of phytoplankton. Dans : *Physiological bases of phytoplankton ecology*. Éditeur T.Platt, *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 310-322.

BUTTON D.K., 1979. On the theory of control of microbial growth kinetics by limiting nutrient concentration. *Deep-Sea Res.*, 25 : 1163-1177.

DE LUCCA R. et McCRAKEN M.D., 1977. Observations on interactions between naturally-collected bacteria and several species of algae. *Hydrobiologia*. 55 : 71-75.

GAUTHIER M., BREITTMAYER J.P. et AUBERT M., 1975. Étude des facteurs responsables de dérives écologiques en milieu méditerranéen côtier. *Proc. 10th European Symposium on Marine Biology (Ostende, Belgique)*. 2 : 271-281.

GIBSON D.M., HENDRIE M.S., HOUSTON N.C. et HOBBS G., 1977. The identification of some Gram-negative heterotrophic aquatic bacteria. Dans : *Aquatic Microbiology*. Éditeurs F.A. Skinner et J.M. Shewan, Academic Press, London, pp. 135-159.

HONJOT, SHIMOUSE, UEDA et HANOKA T., 1978. Changes in phytoplankton composition and its characteristics during red tide season. *Bull. Plankton Soc. Jap.*, 25 : 13-19.

JENSEN A., 1976. Chemical conditioning of seawater by algal growth and development. Dans : *Marine Natural Products Chemistry*. Éditeurs D.J. Faulkner et W.H. Fenical, Plenum, New York, pp. 332-335.

KEATING K.I., 1977. Allelopathic influence on blue-green bloom sequence in a eutrophic lake. *Science*, 196 : 885-887.

KEATING K.I., 1978. Blue-green algal inhibition of diatom growth : transition from mesophilic to eutrophic community structure. *Science*, 199 : 971-973.

- KUTT E.C. et MARTIN D.F., 1975. Report on a biochemical red tide repressive agent. *Environ. Lett.*, 9 : 195-208.
- LELONG P.P., BIANCHI M.A. et MARTIN Y.P., 1980. Dynamique des populations planctoniques et bactériennes au cours d'une production expérimentale de phytoplancton naturel marin. II. Structure et physiologie des populations et leurs interactions. *Can. J. Microbiol.*, 26 : 297-307.
- LUCAS C.E., 1938. Some aspects of integration in plankton communities. *J. Cons. Int. Explor. Mar.* 8 : 309-322.
- LUCAS C.E., 1947. The ecological effects of external metabolites. *Biol. Rev.*, 22 : 270-295.
- LUCAS C.E., 1955. External metabolites in the sea. Papers in Marine Biology and Oceanography. *Deep-Sea Res.* 2 : 139-148.
- LUCAS C.E., 1961. On the significance of external metabolites in ecology. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 15 : 190-206.
- LYMAN J. et FLEMING R.H., 1940. Composition of seawater. *J. Mar. Res.*, 3 : 134-146.
- MAESTRINI S.Y. et BONIN D.J., 1981a. Competition among phytoplankton based on inorganic macronutrient. Dans : Physiological bases of phytoplankton ecology. Éditeur T.Platt. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 264-277.
- MAESTRINI S.Y. et BONIN D.J., 1981b. Allelopathic relationships between phytoplankton species. Dans : Physiological bases of phytoplankton ecology. Éditeur T.Platt. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 323-338.
- MARGALEF R., 1958. Temporal succession and spatial heterogeneity in phytoplankton. Dans : Perspectives in marine biology. Éditeur A.A. Buzzati-Traverso, University of California Press, Berkeley, pp. 323-349.
- MARGALEF R., 1969. Size of centric diatoms as an ecological factor. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.*, 17 : 202-210.
- MARGALEF R., 1978. Life forms of phytoplankton as survival alternatives in unstable environment. *Oceanol. Acta. 1* : 493-509.
- RIEPER M., 1976. Investigations on the relationships between algal blooms and bacterial populations in the Schlei Fjord (Western Baltic Sea). *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, 51 : 915-927.
- RIVA A. et VICENTE N., 1978. Ecotron-Embiez. Situation et aménagement du site. *Publ. Sci. Tech. / CNEXO: Actes Collog.*, 7 : 267-289.
- RYTHER J.H., 1956. Photosynthesis in the oceans as a function of light intensity. *Limnol. Oceanogr.*, 1 : 61-70.
- SCOR-UNESCO. Working group 17 : Determination of photosynthetic pigments. I. Dans : Determination of photosynthetic pigments in seawater, pp. 9-18, Paris : UNESCO, 1966.
- SHEWAN J.M., HOBBS G. et HODGKISS W., 1960. A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae. *J. Appl. Microbiol.*, 23 : 379-390.
- SIEBURTH J.MC N., 1968. The influence of algal antibiosis on the ecology of marine microorganisms. Dans : Advances in microbiology of the sea. Éditeurs M.R. Droop et E.J.F. Wood, Academic Press, London, pp. 63-94.
- SMAYDA T.J., 1963. Succession of phytoplankton, and the ocean as an holocoenotic environment. Dans : Marine Microbiology. Éditeur C.Oppenheimer, C.C. Thomas Pub., pp. 260-274.
- SOURNIA A., 1982. Form and function in marine phytoplankton. *Biol. Rev.*, 57 : 347-394.
- UCHIDA T., 1977. Excretion of diatom-inhibitory substance by *Prorocentrum micans* (Ehrenberg). *Jap. J. Ecol.*, 27 : 1-4.
- UTERMOHL H., 1958. Zür Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton. *Methodik. Comm. Ass. Int. Limnol. Theor. Appl.*, 9 : 38 pp.
- YOUNG L.Y. et MITCHELL R., 1973. Negative chemotaxis of marine bacteria to toxic chemical. *Appl. Microbiol.*, 25 (6) : 972-975.