

## 41

### LE MICROFLAGELLE PHAEOCYSTIS ET LA PRODUCTION HÉTÉROTROPHE BACTÉRIENNE MARINE

H. GROSSEL\* et R. DELESMONT\*\*

\* IFREMER Environnement Littoral, Station Marine de Wimereux - BP 41 - 62930 WIMEREUX - (FRANCE)

\*\* Institut Pasteur de Lille, Laboratoire Littoral - BP 101 - 59820 GRAVELINES (FRANCE)

RÉSUMÉ - *Phaeocystis*, algue nanoplanktonique, se caractérise, dans les eaux de Manche-Est et du sud de la mer du Nord, par des apparitions d'importance souvent considérable à la fin du printemps microplanctonique. Des colonies à thalles gélatineux atteignant 3-5 mm, libèrent au cours de leur développement des microzoospores flagellées libres dans le milieu. De l'acide acrylique est alors excrété dans la mer. A cause de son activité antibiotique reconnue, la question se posait de savoir si une pullulation de *Phaeocystis* pouvait être à l'origine d'un effet antibactérien de l'eau de mer. Une série d'expérimentations menée au printemps 1981 a permis de constater la présence d'acide acrylique dans l'eau de mer lors de la pullulation de *Phaeocystis*, mais à des concentrations nettement inférieures à la CI 50 mesurée *in vitro* sur les populations bactériennes présentes à cette période sur le site. De plus, les observations de productions primaire et hétérotrophe indiquent un synchronisme net dans les pics d'intensité, significatif, pour le moins, d'absence d'inhibition de l'activité hétérotrophe par l'acide acrylique excrété. Ces résultats sont discutés en conclusion.

Mots clés : *Phaeocystis*, acide acrylique, production hétérotrophe.

ABSTRACT - *Phaeocystis*, a nanoplanktonic algae, appears in the eastern Channel and in the south of the North Sea, at the end of the microplanktonic spring outburst, with often considerable density. At that time, acrylic acid is excreted in the water. On account of its well known antibiotic activity, one could wonder if a bloom of *Phaeocystis* might be responsible for an antibacterial effect of the sea water. Acrylic acid has been detected in spring 1981 during the *Phaeocystis* bloom. Its concentration was greatly inferior to the 50 % inhibitory concentration measured *in vitro* against natural bacterial population.

Furthermore, results about primary and heterotrophic productions show a sharp synchronism in the peak of intensity. This means, at least, there is no inhibition of the heterotrophic activity by excreted acrylic acid. These results are discussed in conclusion.

Key words : *Phaeocystis*, acrylic acid, heterotrophic production

### INTRODUCTION

*Phaeocystis poucheti*, algue flagellée nanoplanktonique de la classe des Haptophycées, constitue une des caractéristiques de l'évolution annuelle de l'écosystème côtier littoral de Manche orientale et de la mer du Nord. Elle fut identifiée à la fin du siècle dernier par Sars en 1878, puis redécouverte par Pouchet (1982), décrite par M.P. Hariot, (in Pouchet, 1) et classifiée par Lagerheim (1896).

Vu la multiplicité des formes présentées par *Phaeocystis*, d'où une complexification de la taxonomie sur des bases incertaines, Kashkin (1963) rassemble toutes les formes connues en une seule espèce : *Phaeocystis poucheti*. Sa large représentation géographique et l'intensité remarquable de ses apparitions sont à l'origine de nombreux travaux. Elle a un

de mer. Quand toutes les gammes ont été ainsi fixées, le nombre de germes totaux est déterminé par épifluorescence dans les échantillons témoins sans toxique, et on cherche celui qui a eu l'incubation la plus longue sans augmentation du nombre total de cellules. Pour la gamme ainsi sélectionnée, et celle-là seulement, les nombres de germes « actifs » sont déterminés. On en déduit la dose inhibant l'apparition de 50 % de ces germes (CI 50). La toxicité de l'acide acrylique a également été déterminée par étalement en surface sur milieu gélinifié 2216 E de Zobell (1955) de l'eau de mer mise en présence de quantité croissante d'acide pendant 30 minutes. Les boîtes de Pétri sont incubées trois semaines à 20°C et une CI 50 est alors calculée.

### Dosage de l'acide acrylique

Les dosages sont réalisés par injection directe de 100 µl d'eau de mer (filtrée à 1 µm) dans un chromatographe en phase liquide (éluant : acétonile (4/eau (96) + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> q.s.p. pH 3). Seul l'acide acrylique monomère est ainsi pris en compte.

## RESULTAT

Le tableau 1 présente les résultats comparatifs des productivités et de quelques autres paramètres mesurés sur l'eau brute. La figure 2 rapporte l'effet des filtrations fractionnées sur les dénombrements des *Phaeocystis*. Les résultats concernant les cultures de populations bactériennes naturelles en présence d'acide acrylique sont illustrés dans les figures 3 et 4. La figure 5 synthétise les données de productivités rassemblées dans le tableau 1.

TABLEAU 1			MICROBIOLOGIE			PHYTOPLANCTON				
DATE	T (°C)	Acide acrylique µg/l	V eau µg glucose / ml	Gérons totaux · 10 <sup>6</sup> / ml	V max / h × 10 <sup>-2</sup>	Production primaire µgC / ml · h (p)	Chloro. µg/l (c)	P / B	Phaeocystis δ / ml	Nombre de cellules microplanctoniques / ml
12/03	8°4	5	-	-	-	28.80	7.59	3.77	0	1079
09/04	9°8	< 1	0.002	1.3	8.3	44.13	8.43	5.23	≈ 1000	406
27/04	9°6	9	0.180	2.9	8.2	17.97	5.30	3.39	≈ 1000	141
15/05	12°7	13	0.633	3.3	19.2	154.34	29.35	5.26	170 000	81
20/05	14°4	12	0.252	2.6	9.8	98.11	21.35	4.63	30 000	177
04/06	14°4	4	0.443	5.9	7.5	178.90	37.30	4.79	0	7711

### Dénombrements phytoplanctoniques et bactériens totaux

Les données du tableau 1 traduisent l'évolution comparée des populations microplanctoniques et de *Phaeocystis*. Le mois d'avril 1981, marqué par l'apparition discrète de *Phaeocystis* sous forme de colonies (fig.2), correspond à un tassement de l'abondance microplanctonique. Le mois de mai montre la colonisation de la masse d'eau par le nanoflagellé représenté essentiellement par des microzoospores, ainsi que l'indiquent les filtrations fractionnées.

Le microplancton, jusqu'alors composé d'espèces printanières, devient très peu diversifié. *Nitzschia delicatissima*, diatomée pennée, qui trouve visiblement un support favorable à son développement dans les colonies dégradées de *Phaeocystis*, domine nettement cette population de maigre abondance. La fin du mois de mai marque un recul de cette évolution avec une diminution nette de la population de *Phaeocystis* et l'apparition post-printanière d'une diatomée centrique, *Rhizosolenia delicatula*. C'est cette espèce qui, dès le début de juin, domine l'essor du bloom estival avec une densité cellulaire importante (80 % des 2 200 cellules/cm<sup>3</sup>). *Phaeocystis* n'est alors plus décelable dans la masse d'eau.

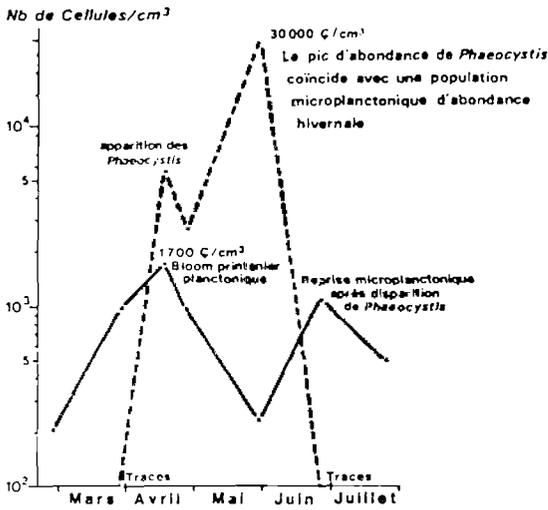
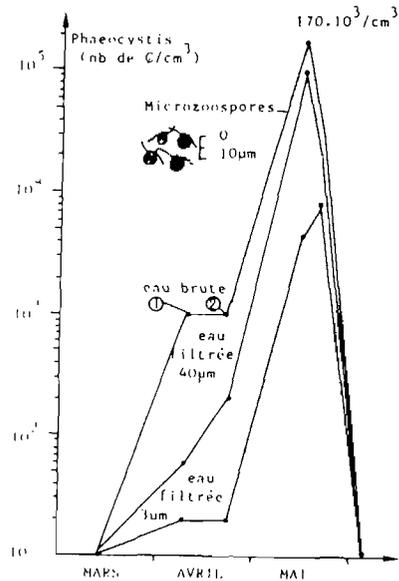


Figure 1 : Année 1980  
Evolution comparée des abondances microplanktoniques et en *Phaeocystis*.



- ① Début d'apparition : colonies à thalles gélatineux.
- ② Colonies très dégradées : *Phaeocystis* est entièrement présent sous forme de macro et microzoospores.

Figure 2 : Année 1981  
Dénombrements de *Phaeocystis* (cellules :  $\text{cm}^3$ )

### Dosage de l'acide acrylique et essai de toxicité en laboratoire

L'évolution de la teneur des eaux en acide acrylique est illustrée par la figure 5. Présent en faibles concentrations en début et en fin de bloom de *Phaeocystis* ( $4 \mu\text{g/l}$ ), il passe par un maximum observé ( $13 \mu\text{g/l}$ ) qui correspond au pic de *Phaeocystis*. Parallèlement, la détermination de la CI 50 de l'acide acrylique par épifluorescence fournit une valeur de  $5 \cdot 10^4 \mu\text{g/l}$  (fig.3), soit 4000 fois la valeur rencontrée sur le site ( $13 \mu\text{g/l}$ ). Cette teneur maximale observée lors du bloom ( $1,7 \cdot 10^8$  cellules/litre) est à rapprocher des  $7 \mu\text{g/l}$  estimés par Guillard et Hellebust (1971) pour des blooms importants.

Les dénombrements de germes revivifiables sur milieu de Zobell, en présence des mêmes gammes de concentrations en acide acrylique (fig. 4), semblent indiquer que pour les germes ainsi sélectionnés l'acide acrylique devient inhibiteur au dessus de  $10^5 \mu\text{g/l}$ , donc pour des concentrations environ deux fois supérieures à la CI 50 établie ci-dessus. Par contre, le fait intéressant est qu'il apparaît un effet favorable à la croissance de ces germes résistants et ce, pour des concentrations variant entre la teneur maximale en eau de mer et la teneur limite d'inhibition.

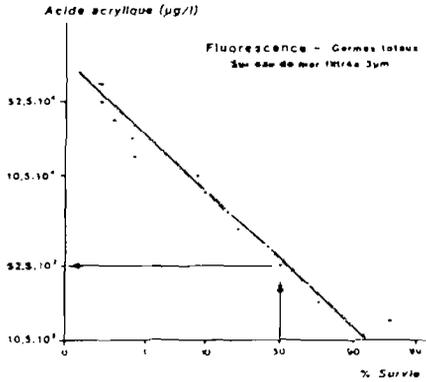


Figure 3 : Mesure du pourcentage de survie de la flore hétérotrophe en présence d'acide acrylique. Détermination de la CI 50.

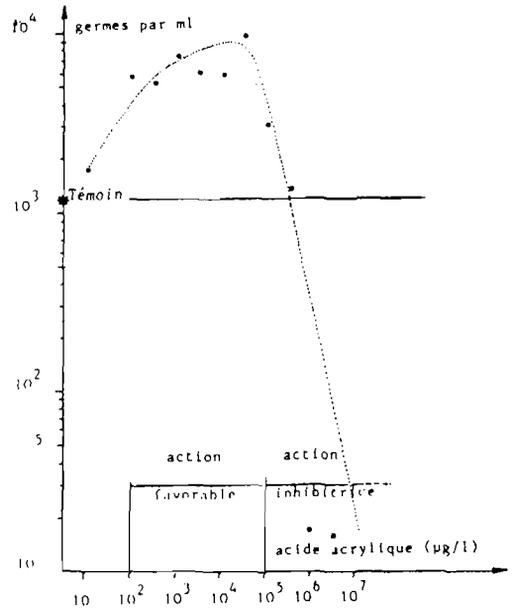


Figure 4 : Dénombrements des germes revivifiables en milieu de Zobell en présence de gamme croissante d'acide acrylique.

### Résultats généraux de productivité

La figure 5 rassemble l'essentiel des mesures correspondant aux observations sur le site. La production primaire, après une chute en fin avril due à la diminution de la population microplanctonique, montre un pic important le 15 mai (154 mg C/m<sup>3</sup>.h), au moment du bloom de *Phaeocystis*. A ce moment, le rapport production primaire/biomasse chlorophyllienne (rapport P/B du tableau 1), significatif de l'état physiologique des algues, marque le maximum de toute cette période d'observations. Cette production primaire est nettement dépassée en début juin par l'abondante population des *Rhizosolenia* (175 mg C/m<sup>3</sup>.h). La production hétérotrophe, représentée ici par la vitesse maximale d'absorption de glucose marqué (V max), montre un pic net à la mi-mai, en même temps que le bloom de *Phaeocystis*. De plus, le rapport V max/nombre de germes totaux est au même moment révélateur d'un optimum d'activité. Ensuite (fin mai - début juin) la production montre une évolution parallèle à la production primaire, alors que le rapport V max/nombre de germes totaux diminue lentement.

### DISCUSSION

Si les blooms de *Phaeocystis* apparaissent comme des événements perturbateurs de l'évolution printanière de l'écosystème pélagique, il semble que cela concerne surtout le domaine phytoplanctonique. Néanmoins, les blooms de *Phaeocystis* ne sont pas sans effet sur le compartiment bactérien. On observe en premier lieu une différence dans les

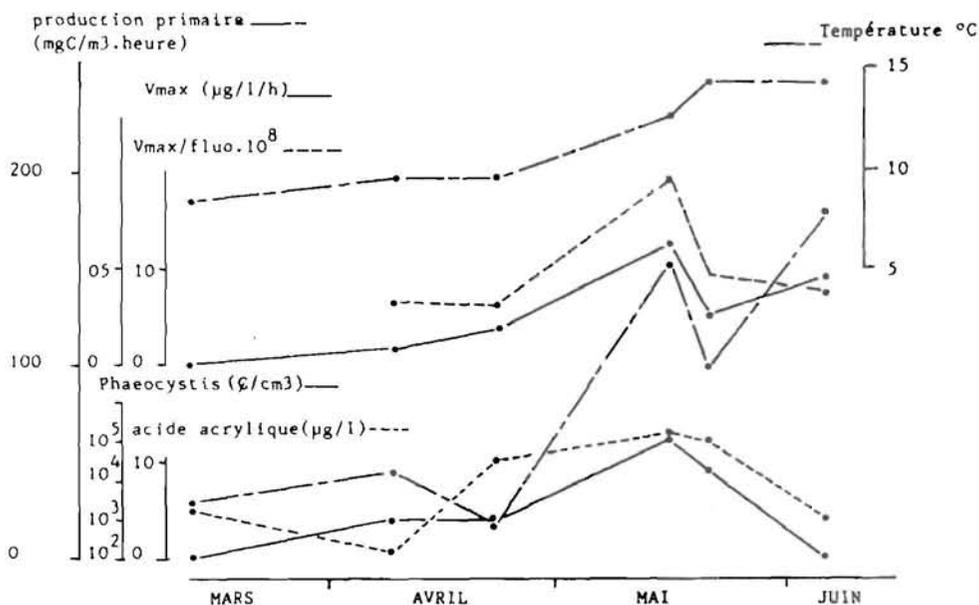


Figure 5 : Année 1981, courbes de productions primaire et hétérotrophe, de teneur en acide acrylique et de dénombrements de *Phaeocystis*.

observations en parallèle des productions primaires et hétérotrophes, laissant penser à une variation, ou à une capacité d'adaptation, de la sensibilité de la microflore aux substances excrétées par *Phaeocystis* : c'est ainsi que Gieskes et Kraay (1977) Jones et Spencer (1970), qui s'appuient sur les données de Sieburth (1960-1961), relient des observations de baisse de production hétérotrophe à l'existence de bloom de *Phaeocystis*. De même, Laanbroek (1985) décrit une baisse de production bactérienne lors de pics de *Phaeocystis* dans un milieu semi-ouvert de type estuarien (salinité d'environ 27 ‰).

Les tests de toxicité de l'acide acrylique réalisés dans ce travail montrent que l'on est bien en dessous des doses nécessaires pour observer une inhibition en mer. Il est cependant vrai que ces tests ne portent que sur une fraction de la flore bactérienne marine (1 % du nombre total de cellules bactériennes sur milieu de Zobell et 15 à 20 % avec la méthode de Kogure). Sur le même site des valeurs plus faibles de CI 50 ont été rapportées, (Delesmont et Delattre, 1983). Ces valeurs (20 à 50 µg) peuvent être rencontrées en mer. Cependant, ce sont pour la plupart des mesures hivernales et la CI 50 semble s'élever avec la proximité du printemps phytoplanctonique. Il est alors possible d'envisager une adaptation saisonnière de la microflore à la présence d'acide acrylique.

En 1981, la production hétérotrophe sur le site de Gravelines montre un maximum coïncidant avec celui du taux d'acide acrylique en mer, ce qui traduit une bonne adaptation de la microflore aux conditions du milieu. Des résultats similaires aux nôtres (Lancelot, 1984) confortent cette concordance des productions primaire et hétérotrophe, en période de bloom de *Phaeocystis*, plus large dans le sud de la mer du Nord. Avec une biomasse chlorophyllienne moindre, l'auteur indique une excrétion d'acides carboxyliques par le phytoplancton atteignant 50 µg C/litre, ce qui est compatible avec les 13 µg/litre d'acide acrylique dosé dans notre expérimentation. Une partie de la flore peut cependant être inhibée, mais nos travaux ne le mettent pas en évidence. De l'ensemble de

ces résultats se dégagent nettement l'absence d'inhibition de l'acide acrylique excrété en mer lors du bloom de *Phaeocystis* du printemps 1981 sur la microflore hétérotrophe, ainsi que la simultanéité de bons indices physiologiques bactériens et phytoplanctoniques permettent de confirmer ce constat lors d'un bloom. Les expérimentations menées en laboratoire confirment le pouvoir antibiotique de l'acide acrylique, mais pour des concentrations bien supérieures à ce que l'on peut rencontrer en mer.

#### REMERCIEMENTS

Madame Bernadette Leu (S.N.3. Université de Lille) pour les comptages en scintillations de la production primaire. Monsieur Guy Quilliau (Ifremer, Environnement - Brest) pour la réalisation des figures. Monsieur Jean Claude L'Hopitault (Institut Pasteur de Lille -Service des eaux) pour le dosage de l'acide acrylique.

---

BROUARDEL J., RINCK E., 1963. Mesure de la production de matière organique en Méditerranée, dans les parages de Monaco, à l'aide du  $^{14}\text{C}$ . *Ann. inst. Océan. Tome XL fasc. 2* : 109-164.

DALEY R.J., HOBBIÉ J.E., 1975. Direct counts of aquatic bacteria by modified epifluorescence technique. *Limnol. Oceanogr.* 20 : 875-882.

DELSMONT R., DELAIRE J.M., 1983. Une mesure globale de la toxicité pour les bactéries marines par microscopie en épifluorescence. *Environ. Technol. Letters*, 4 : 265-270.

GIESKES W.W.G., KRAAY G.W., 1977. Primary production and consumption of organic matter in the Southern North Sea during the spring bloom of 1975. *Netherlands Journal of Sea Research* 11 (2) : 146-167.

GROSSI H., 1978 à 1982. Phytoplancton - production primaire in «Site de Gravelines» étude annuelle de surveillance écologique. In « Site de Paluel - étude annuelle de surveillance écologique » Centre National pour l'exploitation des Océans (pour Électricité de France).

GUILLARD R.R.L., HELFRUST J.A., 1971. Growth and the production of extracellular substance by two strains of *Phaeocystis poucheti*. *J. Phycol.* 7 : 330-338 (1978).

JONES M., SPENCER C.P., 1970. The phytoplankton of the Menai straits. *J.Cons. Int. Explor. Mer* 33, n° 2 : 169-180.

KASHSKIN N.I., 1963. Materials on the ecology of *Phaeocystis poucheti* (Hariot Lagerheim 1893 (chrysophyceae). Habitat and specifications of biogeographical characteristics (in Russian) *Okeanologiya, Moscow* 3 (4) : 697-705.

KENNEDY J.F., 1969. Liquid scintillation medium for aqueous samples. *Experientia*, 25, 1120.

KOGURE K., SIMIDU U., TAGA N., 1979. A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria. *Can. J. Microbiol.* 25 : 415-420.

LAANBROEK H.J., VERPLANKE J.C., DE VISSCHER P.R.M., DE VUYST R., 1985. Distribution of phyto- and bacterioplankton growth and biomass parameters, dissolved inorganic nutrients and free amino acids during a spring bloom in the Oosterschelde basin, The Netherlands. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 25 : 1-11.

LAGERHEIM G., 1896. Ueber *Phaeocystis poucetti* (Har) Lagerh., eine Plankton-Flagellate Ofversigt of Kongl. Vetenskaps Akademiens Förhandlingar - 53 : 277-288.

LANCELOT C., BILLEN C., 1984. Activity of heterotrophic bacteria and its coupling to primary production during the spring phytoplankton bloom in the southern bight of the North Sea. *Limnol. Oceanogr.* 29 : 721-730.

MORITA R.Y., ZOBELL C.E., 1955. Occurrence of bacteria in pelagic sediments collected during the Mid. Pacific Expedition. *Deep sea Research*, 3 : 66-71.

POUCHET G., 1892. Sur une algue pélagique nouvelle. *C.R. Hebd. Soc. Biol.* 44 (9) : 34-36.

RICHARDS F.A., THOMSON T.G., 1952. The estimation and characterisation of plankton populations by pigment analyses. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. *J. Mar. Res.* 11 : 156-172.

- SAVAGE R.E., 1930. The influence of *Phaeocystis* on the migration of the herring. *Fish Invest. London Ser.2-12* (2) : 5-14.
- SIEBURTH J. McN, 1959. Antibacterial activity of antarctic marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 4 : 419-424.
- SIEBURTH J. McN, 1960. Acrylic acid, an «antibiotic» principale in *Phaeocystis* blooms in Antarctic waters -*Sci 132* : 676-677.
- SIEBURTH J. McN, 1960. Acrylic acid, an “antibiotic” principle in *Phaeocystis* blooms in Antarctic waters-*Sci 132* : 676-677.
- WRIGHT R.T., HOBBIÉ J.E., 1965. The uptake of organic solutes in lake water. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 22 - 28.