

R. BARATIÉ¹, M. BOISSON², J.C. BRACONNOT¹, S. DALLOT¹, F. FERNEX¹

¹ Observatoire Océanologique, U.R.A. CNRS: 06230- Villefranche/Mer, France
² Office Monégasque de l'Environnement, Fontvieille, Principauté de Monaco

ACOSTA POMAR M.L.C.¹, CARUSO G.², MAUGERI T.L.¹, and ZACCONE R.²
¹ Dipart. di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Salita Sperone 31, S. Agata, Messina, Italy
² Istituto Sperimentale Talassografico, Spianata S. Raineri, 98100 Messina, Italy

Cultural methods may underestimate the abundance of bacteria present in natural samples. Direct counts by epifluorescence microscope utilizing specific DNA probes (fluorochrome as DAPI and AO) are more useful methods to enumerate the marine bacterial populations. The numbers obtained by direct microscopic method exceed plate counts by 2 to 3 orders of magnitude. But this method is not specific since most marine bacterial cells appear similar under epifluorescence microscope. The indirect immunofluorescence (IIF) may be a specific approach to know the species composition of marine microbial communities. We used IIF technique to demonstrate the presence of fecal indicators as *E. coli* (ZACCONE *et al.*, in press) and *Salmonella* strains (MAUGERI *et al.*, 1992a).

The presence of the picophytoplankton in sea water samples - the autofluorescent cells of picoplankton - has been recognized by the epifluorescence microscope. It represents an important fraction of plankton even if its quantity and quality are highly variable. In many regions of the oceans prokaryotic cells (cyanobacteria) outnumber the eukaryotic cells by approximately an order of magnitude. Cyanobacteria at epifluorescence appear yellow orange, eukaryotic cells red (MAUGERI *et al.*, 1992b); *Synechococcus* is the genus more studied fluorescence microscope appear yellow-orange, eukaryotic cells red; the species of this genus can be distinguished by the different prevailing pigment. Different clones contain, phycoerythrin (PE) and phycocyanin (PC) dominant pigments. Autofluorescence has been used successfully to identify and enumerate PE-containing strains. By this method the PC-containing cyanobacteria are not distinguishable. Specific sera labelled with fluorescein isothiocyanate has been proposed to identify and enumerate marine chroococcoid cyanobacteria (CAMPBELL *et al.*, 1983; CAMPBELL, 1987). Results of a preliminary survey of the distribution and population density of picophytoplankton in the coastal waters surrounding Messina were presented in a previous paper (MAUGERI *et al.*, 1992b).

The fluorochrome DAPI has been used to demonstrate the total number of picoplanktonic cells, the total number of autofluorescing cyanobacteria and two prepared antisera against the cyanobacterial strains from Culture Collection of Marine Phytoplankton, (*Synechococcus* sp. WH 7803, CCMP 1334 and *Synechococcus bacillaris* WH 5701, CCMP 1333, PC-dominant strain and that lacks PE) and the specific abundance of cyanobacterial strains in the surface water samples collected in September 1993 from 18 stations in the Ionian and Tyrrhenian Seas. The used procedures were as described by MAUGERI *et al.* (1992b) and CAMPBELL *et al.* (1983). In the coastal waters of Messina, where urban and industrial wastes are usually dumped, picophytoplanktonic cells ranged between 3.7×10^2 cells/ml and 2.0×10^3 cells/ml. The abundance of PE-containing (WH 7803) ranged from 4.1×10^2 cells/ml (stations a, j and m) to 1.3×10^3 cells/ml (st c), whereas the PC-containing *S. bacillaris* ranged from 1.4×10^2 (st c and e) to 6.7×10^2 cells/ml (st b) in the examined samples. Fig. 1 shows the abundance of cyanobacterial cells. Fig. 2 shows the concentration of two cyanobacterial serogroups tested by IIF. The IIF showed only a few cross

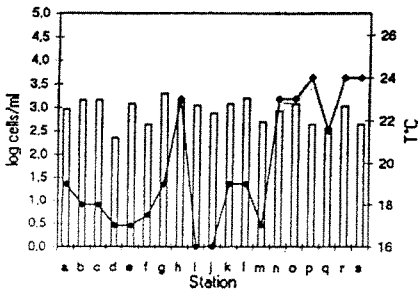


Fig. 1.

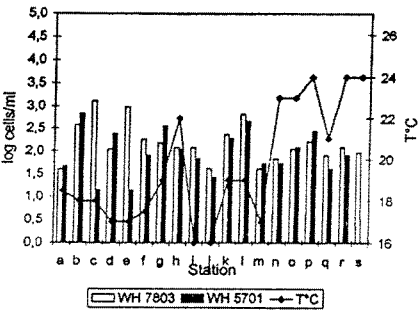


Fig. 2.

reactions in *Synechococcus* genera (ZACCONE *et al.*, 1994). These are the first existing data on the distribution of specific serogroups of picophytoplanktonic cyanobacteria in the Mediterranean sea. These data show a correlation with water temperature and emphasize the seasonal studies to define factors that could control or influence the serogroup distribution. The low numbers of strains specific by IIF demonstrate that this method is of limited use in quantifying functional groups of microorganisms but that it provides specific information on the diversity of natural populations and their relation to culturable strains of bacteria and cyanobacteria.

REFERENCES

CAMPBELL L., CARPENTER E.J., JACONO V.J., 1983. Identification of Chroococcoid cyanobacteria by immunofluorescence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46 : 553-559.
CAMPBELL L., 1987. Identification of marine coccoid cyanobacteria by immunofluorescence. In : Yentsch C.M. and Mague F. (eds) *Immunochemical approaches to estuarine, coastal, and oceanographic questions, coastal and estuarine lectures series XXX* Springer, Berlin.
MAUGERI T.L., ZACCONE R., CARUSO G., CRISAFI E., GUGLIANDOLO C., 1992a. Examen de la qualité de l'eau de mer par immunofluorescence. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 33 : 199.
MAUGERI T.L., ACOSTA POMAR M.L.C., BRUNI V., SALOMONE L., 1992b. Picoplankton and picophytoplankton in the Ligurian Sea and Straits of Messina (Mediterranean Sea). *Botanica Mar.*, 35 : 493-502.
ZACCONE R., CRISAFI E., CARUSO G., in press. Evaluation of fecal pollution in coastal waters by immunofluorescence. *Mar. Microbial Food Webs*.
ZACCONE R., ACOSTA POMAR M.L.C., CARUSO G., FEMINÒ A., MAUGERI T.L., 1994. Immunofluorescence of *Synechococcus* spp. by epifluorescence and scanning laser microscopes. VIII International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, Urbino, 10-15 September, Abstracts : 131.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 34, (1995).

Lors du précédent congrès de la CIEMSA, nous avons présenté des résultats relatifs à l'étude pluridisciplinaire d'un site de la Méditerranée nord-occidentale : le point B près du Cap Ferrat, où les fonds atteignent 80 à 90 m (BOISSON *et al.*, 1992). Nous constatons que, au printemps 1988, la biomasse phytoplanctonique avait augmenté jusqu'à la fin avril et diminué ensuite jusqu'à la fin de l'été. La population de salpes, elle, s'était développée à partir de la fin du mois de mars et avait atteint son maximum entre le 15 et le 20 mai; elle était devenue quasi nulle dès la fin du mois de juillet. La concentration en N particulière dans le sédiment superficiel au même point était la plus élevée en juin, très peu de temps après le maximum du taux d'ammonification, qui, lui, a eu lieu à peu près en même temps que le maximum de la population des salpes. Nous avons déduit de ces observations que les salpes, s'étant nourries du phytoplancton, l'avaient consommé jusqu'à presque l'épuisier. La réduction de la biomasse phytoplanctonique avait dû entraîner l'extinction de la population des salpes. Nous avons présenté un modèle mathématique qui exprimait que la réduction de la masse phytoplanctonique avait été due aux seules salpes, sans tenir compte d'une population de copépodes qui s'était développée en avril et avait évidemment contribué à la diminution de la biomasse phytoplanctonique. Par ailleurs, il est probable que les salpes ne se sont pas seulement nourries de phytoplancton, mais aussi de pelotes fécales de copépodes (et de bactéries développées aux dépens de pelotes fécales).

En 1987, les populations planctoniques, plus abondantes, s'étaient succédées à peu près de la même façon. Exprimée en azote, la masse phytoplanctonique atteignait à la fin mars 1987 $0.29 \mu\text{atg N/l}$. En avril, un pic de copépodes correspondait à 11000 individus/m³, soit $0.6 \mu\text{atg N/l}$. A la fin mai, la concentration en salpes atteignait son maximum avec $0.2 \mu\text{atg N/l}$. Nous avons mesuré les plus fortes concentrations en N organique dans le sédiment superficiel et les plus forts taux de destruction de l'azote organique (ammonification) à la fin juin, respectivement 0.8 mg N g^{-1} et $0.05 \mu\text{M cm}^{-3} \text{ j}^{-1}$. La quantité de copépodes et celle de salpes étaient négligeables en juillet. L'introduction du développement des copépodes dans le modèle en modifie la formulation, en particulier dans la première équation qui exprime les conditions déterminant la croissance de la masse phytoplanctonique. Et, bien entendu, une équation supplémentaire doit exprimer les conditions qui permettent le développement de la masse des copépodes; l'équation relative aux salpes devra exprimer que ces organismes s'étaient en partie nourris de pelotes fécales de copépodes.

$$(1) \frac{dP}{dt} = L(N) u P - m_p P - I_c C (1 - \exp(-k_c(P - P_0))) - I_s S P / (P + R)$$

P : biomasse phytoplanctonique, exprimée en $\mu\text{M(N)} \text{ l}^{-1}$.
R : stock de pelotes fécales présentes dans l'eau (disponibles pour les salpes)

$L(N) = \frac{n}{n + N}$, avec $n = 1.5 \mu\text{atg N l}^{-1}$, concentration "optimale" en nutriments azotés, N : concentration en nutriments azotés (ANDERSEN et NIVAL, 1988).

u : fonction dépendant des concentrations en o-P, Silice, de l'irradiance, etc.
m_p : mortalité du phytoplancton (j^{-1}). I_c : coefficient d'ingestion par les copépodes (j^{-1})
C : concentration en copépodes. P₀ : concentration limite en dessous de laquelle le développement de la population des copépodes n'est plus possible (= 0.07)

$$\text{La production primaire (2) } \frac{dC}{dt} = \frac{pp}{1.5 + N} u P$$

Le développement de la biomasse des copépodes peut s'écrire:

$$(3) \frac{dC}{dt} = a_c I_c C (1 - \exp(-k_c(P - P_0))) - m_c C - h_c C$$

a_c : coefficient déterminant la part de phytoplancton assimilée par les copépodes par rapport à la part ingérée par les copépodes; a_c I_c = 0.3 or 0.31 j^{-1} .
k_c = facteur d'ajustement ($1 (\mu\text{atg N})^{-1}$).
h_c : coefficient d'excrétion; m_c : coefficient de mortalité; (m_c + h_c) = 0.18 j^{-1} .

Les pelotes fécales produites par les copépodes :
(4) $r = (I_c - a_c I_c) C$

Le stock de pelotes fécales disponible pour les salpes :

$$(5) q(t+dt) = P(t+dt) + \sum_{i=0}^t (i r - I_s (\frac{q}{q+P})) S$$

i : facteur de proportionnalité exprimant la portion de pelotes de copépodes disponible pour les salpes. I_s : coefficient d'ingestion des salpes (j^{-1}) (à déterminer).

L'équation définissant le développement de la population de salpes devient:

$$(6) \frac{dS}{dt} = a_s I_s (1 - \exp(-k_s(q - q_0))) S - (m_s + h_s) S$$

En utilisant les valeurs mesurées au point B complétées par des valeurs fournies par la littérature, on peut calculer un taux d'ingestion pour les salpes $I_s = 0.8 \text{ j}^{-1}$, et un taux d'assimilation $a_s I_s = 0.48 \text{ j}^{-1}$. On peut admettre que seule une partie de l'azote organique du sédiment (N_m) est rapidement minéralisable en ammoniac et que le taux de transformation au jour t est proportionnel à la concentration en azote minéralisable 10 jours avant. Le coefficient calculé est $K_N = 1.3 \times 10^{-4} (N_{m(t-10)}) \text{ j}^{-1}$. Une formulation semblable à celle présentée en 1986 (BARATIÉ *et al.*, 1986) permet d'évaluer le taux de nitrification, avec un taux maximum RN = $0.47 \mu\text{M cm}^{-3} \text{ j}^{-1}$.

Ce modèle conduit à une estimation de la production primaire destinée à répondre à l'action des herbivores. Le maximum calculé ($950 \text{ mg C m}^{-2} \text{ j}^{-1}$) est environ 2 fois plus élevé que celui trouvé par d'autres auteurs pour le même secteur (BROUARDEL et RINK, 1963; RODRIGUEZ-PRADA, 1973). Le résultat apparemment trop élevé du calcul peut signifier que les copépodes utilisent pour leur nourriture non seulement le phytoplancton mais aussi des bactéries et (ou) du nanozooplancton. Il faudrait prendre en compte le développement microbien, mais les données sont actuellement fragmentaires.

RÉFÉRENCES

ANDERSEN V. et NIVAL P., 1987. *Oceanologica Acta*, n° sp : 21-217.
BARATIÉ R., FERNEX F., MOUREAU Z. et STEVENINÓ R.M., 1986. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 30/2 : 258.
BOISSON M., BRACONNOT J.C., FERNEX F., MARMENEAU C., MOITIE M. et PUCCI R., 1992. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 33 : 195.
BROUARDEL J. et RINK E., 1963. *Ann. Inst. océanograph.*, 40 : 109-164.
RODRIGUEZ-PRADA F., 1973. Th. 3C, Univ. Paris VI (Stat. zool. Villefranche); 86 p.

155

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 34, (1995).

