

LE RÔLE DES VITAMINES DANS LES RELATIONS BACTÉRIES-PLANCTON EN EAU DE MER LITTORALE ET DANS LES FLAQUES SUPRALITTORALES.

II - ÉVOLUTION ANNUELLE DES ORGANISMES EFFECTUANT LA SYNTHÈSE DES VITAMINES.

par

Eveline Vacelet

Station marine d'Endoume, 13007 Marseille

Résumé

Les organismes capables d'effectuer la synthèse des vitamines sont présents dans les flaques supralittorales et l'eau de mer littorale et appartiennent aux groupes des bactéries, champignons et levures. L'évolution annuelle des bactéries est comparable à l'évolution générale de la microflore, en particulier à l'évolution du coefficient d'activité, c'est-à-dire à la vitesse de multiplication de la population bactérienne. L'évolution des champignons et levures présente une certaine alternance avec celle des bactéries mais l'ensemble de ces organismes semble être favorisé par les températures élevées et les fortes concentrations en matières organiques.

Introduction

L'évolution annuelle de la concentration en vitamine B 12 dans les flaques supralittorales a été étudiée par Martin (1973). Dans ce milieu particulier, les concentrations en vitamines sont parfois très fortes par rapport aux données de la littérature ; les périodes les plus riches en vitamines sont l'automne, le printemps et l'été. D'autre part (Vacelet, 1969), il est parfois difficile de déterminer le sens des relations entre les bactéries et le phytoplancton : en général, l'évolution du nombre et de la vitesse de croissance des germes marins hétérotrophes est liée à celle des peuplements phytoplanctoniques, c'est-à-dire que la population bactérienne s'accroît en même temps que le phytoplancton et régresse avec lui, alors que la quantité de matières organiques en suspension est encore proche de son maximum. Si la présence et l'abondance des bactéries étaient simplement liées à la quantité de matières organiques, la poussée bactérienne succéderait à celle du phytoplancton ou, au moins, la prolongerait. En général, il n'en est rien et il est même possible d'observer une poussée de bactéries précédant la poussée printanière dans les flaques. Si l'on tient compte du fait généralement admis (Burkholder et Burkholder, 1956) que les bactéries marines sont des producteurs de vitamines, la poussée de phytoplancton pourrait alors être induite par celle des bactéries, l'intermédiaire étant les vitamines (Vacelet, 1969).

La concentration de vitamines que l'on dose ne représente que la résultante d'une production et d'une consommation ; aussi a-t-il paru nécessaire d'avoir, en outre, une estimation du nombre de bactéries synthétisant les vitamines afin de vérifier cette hypothèse.

Matériel et méthodes

Des prélèvements ont été effectués de mars à octobre dans une cuvette supralittorale, en surface et au fond, et en eau de mer littorale. L'eau est prélevée dans un flacon stérile et les dilutions et ensemencements pratiqués immédiatement après. Le MPN (1) est déterminé sur eau de mer peptonée (10 g/litre) et la série de tubes sert également à la détermination du « coefficient d'activité ». D'autre part, une série d'ensemencements sur milieu solide dépourvu de vitamines est destinée à dénombrer les germes capables de pousser sans vitamines. La composition de ce milieu est la suivante :

Casamino acid (Difco)	5 g
NaCl	25 g
PO ₄ HK ₂	0,25 g
SO ₄ Mg	0,12 g
(SO ₄) ₃ Fe	0,0025 g
SO ₄ Mn	0,0025 g
Solution d'oligoéléments	1 ml
Eau distillée	1 litre

Composition de la solution d'oligoéléments :

Molybdate de sodium	0,05 g
Borate de sodium	0,05 g
Perchlorure de fer	1 goutte
Nitrate de cobalt	0,05 g
Sulfate de cadmium	0,05 g
Sulfate de cuivre	0,05 g
Sulfate de zinc	0,05 g
Sulfate de manganèse	0,05 g
Eau distillée	1 litre

Les lectures sont faites tous les jours dans les tubes, pendant 10 à 12 jours ; dans les boîtes, les numérations sont faites au bout de 10 jours. Les organismes dénombrés sur milieu solide appartiennent aux bactéries, champignons et surtout levures ; ils poussent sans vitamines dans leur milieu et il n'est pas prouvé ici qu'ils en libèrent dans le milieu, mais le fait a été établi pour toutes les souches de bactéries marines capables de faire la synthèse des vitamines que l'on a étudiées jusqu'ici (Burkholder et Burkholder, 1956).

RÉSULTATS

Les graphiques donnent l'évolution du nombre total de bactéries hétérotrophes, une estimation de la vitesse de multiplication des germes présents dans l'eau de mer (coefficient d'activité), le nombre de bactéries capables de se développer sans vitamines et le nombre de levures et de champignons qui présentent la même propriété. Ces données ont été déterminées pour la flaque en surface (Fig. 1), en profondeur (Fig. 2) et en eau de mer littorale (Fig. 3).

(1) «Most probable number», déterminé par les tables de Mac Crady.

I. - Evolution de la microflore dans une flaque supralittorale en surface.

1. Les bactéries hétérotrophes («flore totale»).

La figure 1 montre la fin de la poussée printanière des bactéries hétérotrophes, achevée le 9 avril, puis une poussée préestivale, achevée

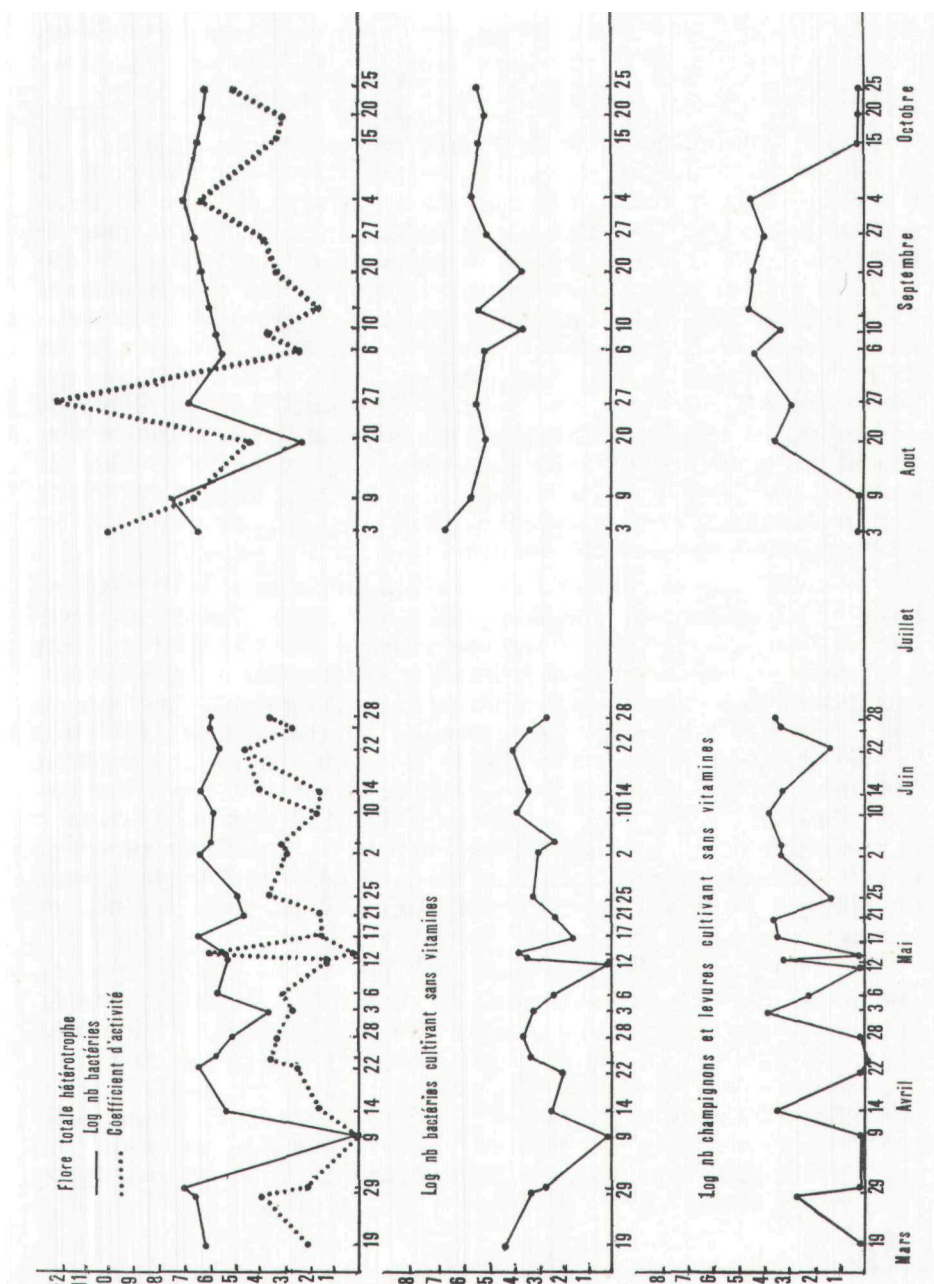


FIG. 1

Evolution de la flore hétérotrophe et des producteurs de vitamines dans une flaque en surface.

le 12 mai, et, enfin, le développement de poussées estivales successives, avec les maximums du 25 mai, 22 juin et 9 août. Le maximum très important du 27 août appartient à la dernière de ces poussées. Celle d'automne débute avec le mois de septembre, elle atteint son maximum le 4 octobre puis décline. Cette évolution est conforme à ce qui a déjà été observé dans les flaques supralittorales (Vacelet, 1969) si l'on considère le coefficient d'activité ; comme toujours, le nombre de germes apparaît très incohérent en ce qui concerne ses fluctuations.

2. *Les bactéries effectuant la synthèse des vitamines.*

Leur évolution présente de grandes analogies avec celle de l'ensemble de la microflore. Le maximum du 9 avril correspond à un minimum de la flore totale et peut donc être assimilé à la fin de la poussée printanière ; on peut par la suite, comme on l'a fait pour la flore totale, déterminer la durée de la poussée post-printanière qui s'achève le 12 mai. Un nombre constamment élevé de germes libérant des vitamines (de l'ordre de 10^3 /ml) accompagne les différentes poussées estivales de la microflore totale hétérotrophe ; la poussée de fin d'été n'est individualisée que pour la flore totale. Pour les germes qui produisent des vitamines, cette période s'étendant jusqu'au début de septembre, est la suite naturelle de la période estivale, marquée seulement par une diminution de la densité bactérienne (le nombre de germes passe de 6.10^6 /ml à 3.10^3 /ml). La poussée d'automne débute le 10 septembre, comme pour la flore totale, et marque, comme elle, un fléchissement à partir du 20 octobre.

L'évolution annuelle des bactéries hétérotrophes et celle des bactéries synthétisant les vitamines présentent assez d'analogies pour qu'il soit possible de déterminer une série de poussées pratiquement synchrones. Cette similitude d'évolution peut être due à des exigences communes vis-à-vis de la température, mais il ne semble pas que ce soit toujours le cas. En effet, si le nombre de germes de la flore totale est sensiblement du même ordre au printemps et en été (environ 10^6 germes/ml), celui des germes qui font la synthèse des vitamines passe de 10^3 - 10^4 germes/ml au printemps, à 10^5 - 10^6 germes/ml en été ; la proportion de ces derniers est donc nettement plus élevée en saison chaude. Une dépendance commune vis-à-vis de la matière organique dissoute ou particulière peut aussi être évoquée, mais les mêmes remarques que pour la température sont à faire.

D'autre part, l'analyse de l'évolution annuelle montre qu'il existe une relation directe, vérifiée quelle que soit la période de l'année, entre le nombre de germes formant des vitamines et le coefficient d'activité de la microflore totale (paramètre qui dépend de la vitesse de croissance des bactéries). En particulier, tous les maximums de ce coefficient correspondent à des pics du nombre de bactéries cultivant sans vitamines, ou les précèdent immédiatement ; les minimums correspondent également. Cet aspect des relations entre les deux types de bactéries sera examiné plus loin.

3. *Le groupe des champignons et levures.*

Les boîtes de Pétriensemencées avec les dilutions d'eau de mer contiennent presque toujours des colonies de levures, plus rarement

des colonies d'autres organismes inférieurs. Ce groupe hétérogène des champignons et levures a une évolution annuelle qui présente beaucoup moins d'analogies avec l'ensemble de la microflore. La période printanière est pauvre et l'on assiste, à plusieurs reprises, à une disparition complète du groupe des champignons et levures (au début et à la fin du mois d'avril). A partir du 15 mai, une poussée de ces organismes se développe et leur nombre se maintient entre 10^2 /ml et 10^3 /ml jusqu'à la fin du mois de juin. Du début d'août à la fin d'octobre, ils montrent une nouvelle poussée qui atteint son maximum le 4 octobre, donc en même temps que la flore totale et la flore donnant des vitamines. Le nombre de germes est sensiblement plus élevé qu'au printemps (de l'ordre de 10^4 germes/ml au lieu de 10^3 germes/ml).

Comme pour les bactéries qui font la synthèse des vitamines, les fortes températures de l'été, ou la présence de populations de forte densité, semblent des facteurs favorisant. Les relations avec la vitesse de croissance des germes de la flore totale sont moins nettes que pour les bactéries : en effet, certains maximums du peuplement de champignons et levures correspondent à des minimums du coefficient d'activité (les 24 avril, 25 mai, 22 juin, 14 septembre). Des maximums de ces deux paramètres coïncident les 29 mars, 14 mai et 4 octobre. Dans ces trois derniers cas, la production de vitamines par les levures et champignons s'ajoute à celle des bactéries ; cependant, il ne semble pas que cette production par les premiers soit très importante car leur présence, quand les bactéries donnant des vitamines sont absentes, ne modifie pas la vitesse de croissance de la flore totale (le coefficient d'activité est minimum). Il est encore possible d'expliquer cette faiblesse du coefficient d'activité en présence de champignons donnant des vitamines et en l'absence de bactéries qui ont la même possibilité, par le fait que les germes à croissance rapide sont précisément ceux qui donnent des vitamines ; mais cela reste à démontrer.

II. - Evolution de la microflore dans une flaque supralittorale au fond.

1. Les bactéries hétérotrophes («flore totale»).

La fin de la poussée printanière se situe, comme en surface, le 9 avril ; la poussée préestivale s'achève le 21 mai. Les différentes poussées d'été s'achèvent le 10 septembre ; elles sont suivies par une poussée d'automne qui est à son maximum le 4 octobre, donc en même temps que celle de surface. Comme précédemment, ces différentes poussées ont été déterminées grâce aux fluctuations du coefficient d'activité, celles du nombre de germes étant moins significatives encore qu'en surface.

2. Les bactéries effectuant la synthèse des vitamines.

La poussée de printemps s'achève un peu plus tard qu'en surface, le 14 avril ; la poussée post-printanière prend fin le 13 mai, donc un peu plus tôt que pour l'ensemble de la microflore ; par contre, la poussée préestivale (à son maximum le 25 mai, achevée le 2 juin), la première poussée estivale (à son maximum le 14 juin) et la dernière poussée estivale (à son maximum le 20 août, achevée le 20 septembre)

correspondent à celle de la flore totale et la poussée d'automne ne présente qu'un léger décalage de son maximum par rapport à la poussée générale.

La densité des germes est sensiblement la même qu'en surface ; elle est seulement un peu plus faible, comme pour l'ensemble de la

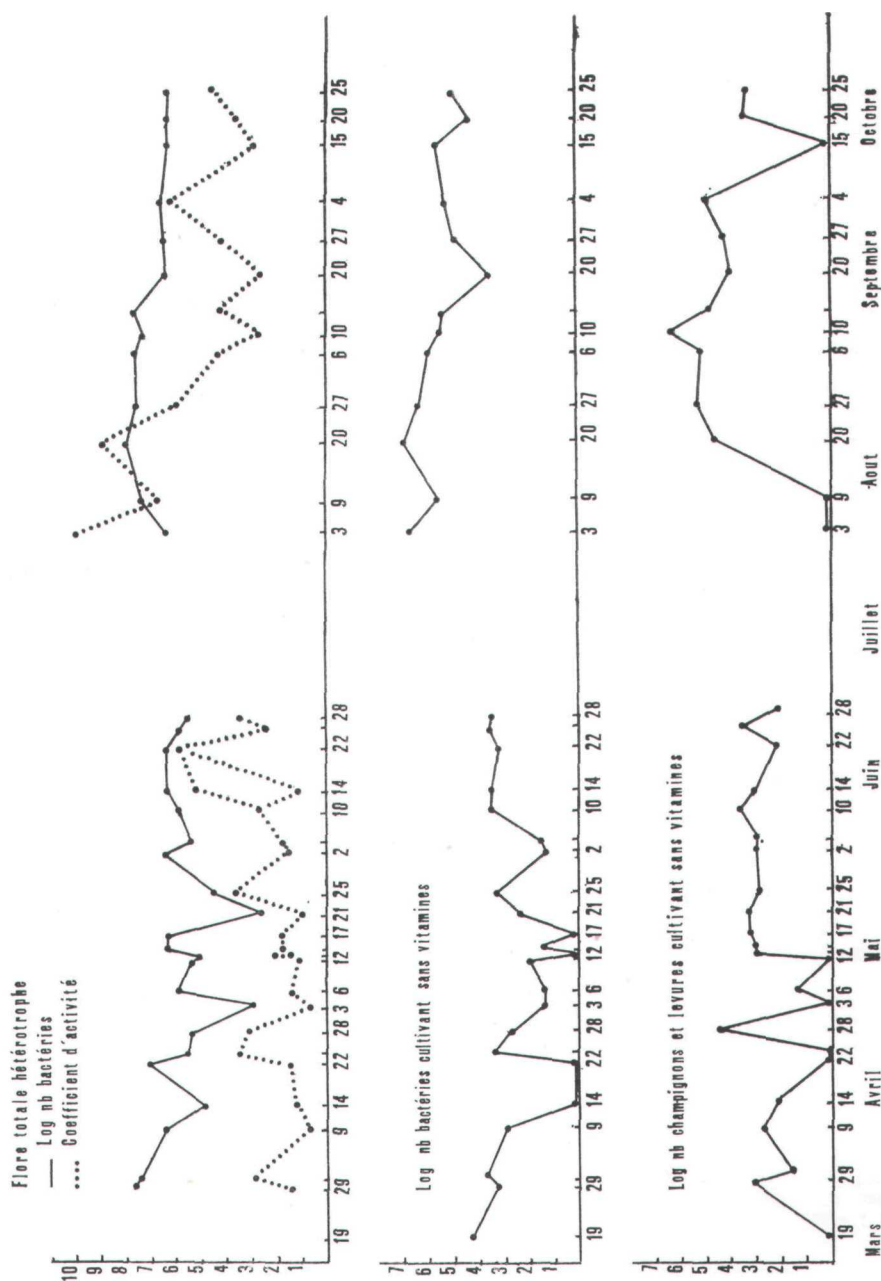


FIG. 2

Evolution de la flore hétérotrophe et des producteurs de vitamines dans une flaque en profondeur.

microflore hétérotrophe, par rapport à celle de la surface. Les germes donnant des vitamines présentent la même différence de densité qu'en surface entre l'hiver et l'été (leur nombre passe de 10^3 - 10^4 /ml au printemps à 10^5 - 10^6 /ml en été). D'autre part, le relatif isolement thermique de la partie profonde de la flaque amène certains décalages dans l'évolution des deux niveaux : poussée printanière interrompue plus tôt en surface (9 avril au lieu du 14 avril), poussée post-printanière débutant plus tard au fond (22 avril au lieu de 14 avril), poussée préestivale débutant le 12 mai en surface, le 17 au fond ; enfin, poussée d'automne plus précoce en surface (6 septembre au lieu de 20 septembre). Ces observations venant à l'appui de celles qui ont été déjà faites par Vacelet (1969) et par Chrétiennot (1971) dans les flaques en confirment le caractère général.

3. *Le groupe des champignons et levures.*

Une poussée printanière de ces organismes se termine tardivement (le 24 avril) ; elle est suivie d'une poussée unique qui englobe les poussées post-printanière et préestivale. Ces deux poussées des champignons et levures sont caractérisées par un nombre d'organismes plus élevé qu'en surface. Les poussées d'été et d'automne sont à peine séparées par une légère diminution du nombre de germes ; la fin de la poussée d'automne se situe le 20 octobre en surface. Les champignons et levures paraissent, au fond comme en surface, préférer les températures élevées ou les fortes concentrations de débris organiques, puisqu'on les trouve plus denses en été qu'au printemps et au fond qu'en surface dans les cuvettes supralittorales ; ils ne semblent pas non plus avoir d'influence sur l'activité de l'ensemble de la microflore hétérotrophe.

III. - Evolution de la microflore en eau de mer littorale.

1. *Les bactéries hétérotrophes («flore totale»).*

Les données n'ont été obtenues que pour la période qui va de juin à octobre. La période estivale proprement dite s'achève le 27 août, avec un minimum du nombre de germes et un minimum de l'activité. Cette période se termine donc plus tôt en mer que dans les flaques, ce qui est une règle générale, le moindre réchauffement suffisant à ramener une température estivale dans les cuvettes, alors que la diminution de la température, en eau de mer libre, marque tout au plus un palier. La poussée de fin d'été, nettement marquée, s'étend du 27 août au 4 octobre ; elle est donc, là encore, achevée plus tôt que dans les cuvettes ; la poussée d'automne débute ainsi dix jours plus tôt qu'en mer.

Quelques remarques sont à faire concernant le nombre relatif des germes de la flore totale en mer et dans les flaques pour la période qui va d'août à octobre ; ce nombre varie de 10^5 à 10^7 germes/ml en surface, et de 10^6 à 10^8 germes/ml au fond de la flaque observée, alors qu'en mer il oscille entre 10^3 et 10^5 germes/ml. Les flaques sont donc nettement plus riches en germes que l'eau de mer, mais l'inverse se produit au milieu de l'été, période durant laquelle les températures

très élevées des flaques interviennent vraisemblablement comme facteur limitant du développement bactérien ; cette situation se retrouve également au milieu de l'hiver par suite de l'établissement de températures trop rigoureuses dans les flaques.

En ce qui concerne la vitesse de multiplication de la flore hétérotrophe, on notera que le coefficient d'activité varie entre 0 et 13,6 en

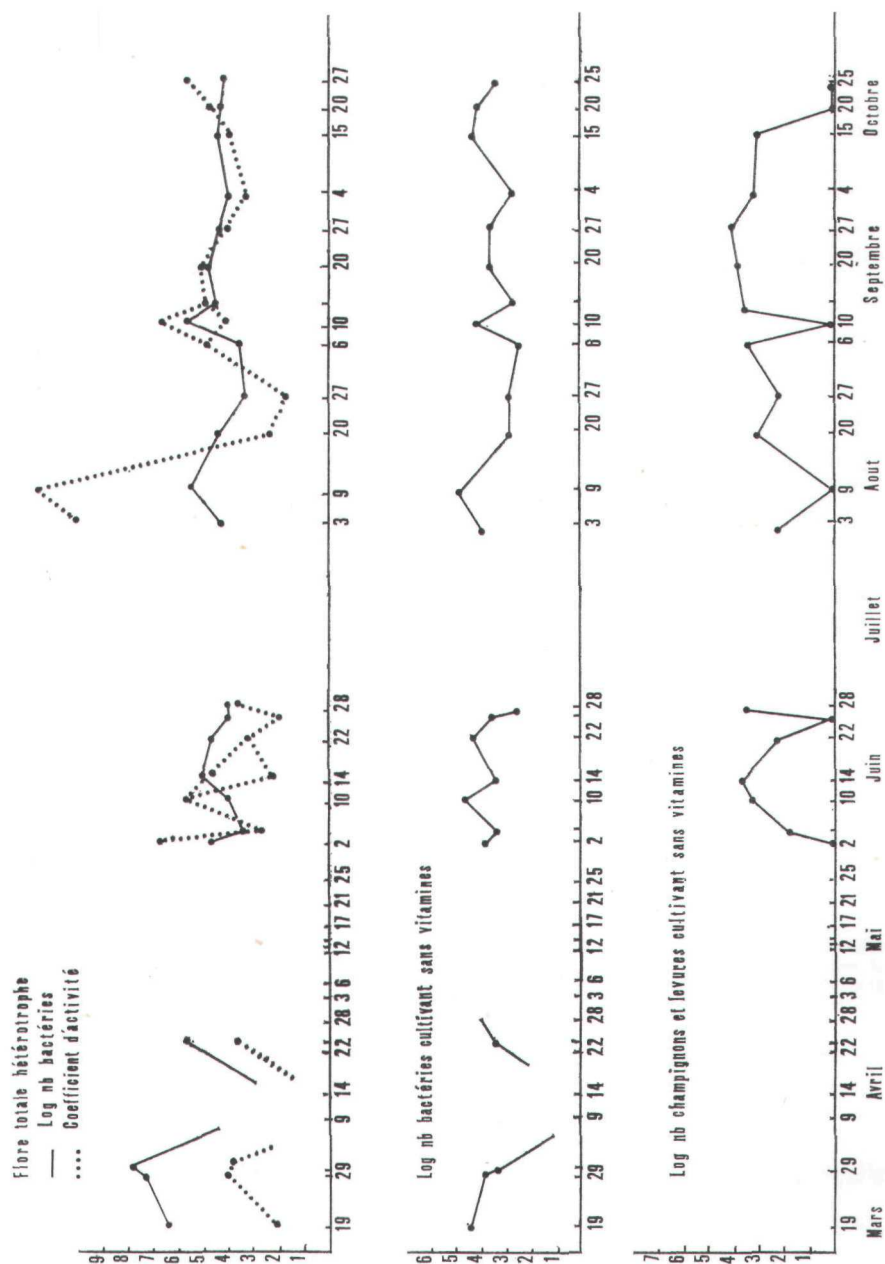


FIG. 3

Evolution de la flore hétérotrophe et des producteurs de vitamines en eau de mer littorale.

surface, entre 0,4 et 10 au fond de la flaque et entre 1,8 et 25 en eau de mer littorale ; les flaques ne sont donc pas toujours plus favorables que l'eau de mer libre pour le développement bactérien.

2. *Les bactéries effectuant la synthèse des vitamines.*

Leur évolution est identique à celle de la flore totale mais les variations du nombre de germes sont moins importantes. Comme on l'a observé pour les deux niveaux de la flaque, la présence de germes à multiplication rapide coïncide avec les maximums du nombre de germes effectuant la synthèse des vitamines.

Au mois de juin, la densité de ce groupe bactérien varie de 10^3 à 10^5 germes/ml en mer et dans les flaques; d'août à octobre ce nombre passe à 10^4 - 10^6 germes/ml au fond de la flaque alors qu'il reste du même ordre qu'en juin en mer. Là encore, les températures élevées des cuvettes ou la forte concentration des déchets organiques, en sont sans doute responsables.

3. *Le groupe des champignons et levures.*

Le caractère thermophile et saprophyte des organismes produisant des vitamines est particulièrement évident dans l'évolution des champignons et levures en eau de mer littorale. Ainsi arrive-t-il fréquemment que ces organismes soient absents de l'eau de mer et que leur nombre se maintienne inférieur à 10^4 germes/ml pendant la période estivale, alors que cette densité est dépassée pendant plus d'un mois en surface, deux mois en profondeur dans la flaque étudiée ; la densité de 10^5 à 10^6 germes/ml est fréquemment dépassée dans la couche profonde qui est également la plus chaude et la plus riche en matières organiques.

Le remplacement de la flore bactérienne produisant des vitamines par un peuplement de champignons et levures, également producteur, n'a pu être observé dans les flaques mais paraît relativement fréquent en mer, en particulier du début d'août à la fin d'octobre. Il existe même une véritable alternance entre les deux peuplements, le maximum de l'un correspondant au minimum de l'autre, les 9 août, 10 septembre et 4 octobre. Il est possible que des phénomènes d'antagonisme, si fréquents pour les organismes du sol, interviennent ici, en particulier les 9 août et 10 septembre, dates auxquelles le maximum des bactéries (flore totale et flore produisant des vitamines) correspond à une disparition des champignons et levures.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La production de vitamines par les bactéries marines a été démontrée par de nombreux auteurs, mais l'activité des champignons et levures est moins bien connue. Dès 1956, Burkholder et Burkholder montrent que des bactéries isolées et cultivées sur des vases marines donnent des quantités appréciables de vitamine B12 ; ces auteurs estiment que ces germes doivent être des producteurs significatifs dans

le milieu marin. Lochhead (1957 et 1958) observe que 35 à 40 p. 100 des bactéries du sol sont des producteurs de vitamine B12, thiamine, biotine, etc. Pour l'eau de mer, Starr *et al.* (1957) portent ce chiffre à 70 p. 100 pour les producteurs de vitamine B12 ; cette dernière étant, dans 40 p. 100 des cas, libérée dans le milieu de culture, ne reste pas associée aux cellules. Gandhi et Freitas (1964) montrent que sur 131 souches testées, 103 produisent des vitamines du groupe de la B12 (soit 78 p. 100 des souches) ; par contre, aucune des levures et aucun des Actinomycètes testés n'en produit. Cette dernière observation semble être confirmée dans le présent travail : en effet, la présence de champignons ou levures synthétisant les vitamines ne modifie pas la vitesse de croissance de l'ensemble de la microflore ; on peut suggérer que, dans ce cas, les vitamines ne sont pas libérées dans le milieu mais n'en sont pas moins synthétisées. La production de vitamine B12 a pu être démontrée récemment pour *Streptomyces* spp. par Aboud-Zeid (1972). Un phénomène qui paraît très répandu est la production de vitamines par les algues du phytoplancton lui-même. Dans des cultures, Carlucci et Bowes (1970) observent une production de vitamines par les algues dans des proportions telles que des organismes auxotrophes, mis en présence de ces cultures dans un milieu dépourvu de vitamines, arrivent à pousser, au moins pendant de courtes périodes. Cette production se fait à tous les stades de la croissance, d'abord par excrétion, puis par lyse des cellules. Les auteurs estiment cependant que les quantités de vitamines libérées sont insuffisantes dans la nature pour assurer une croissance optimale des auxotrophes. Pour Droop (1957), s'il est vrai que la moitié des Flagellés marins et des Diatomées exigent de la vitamine B12 exogène, les quantités requises sont si faibles que la concentration habituelle dans l'eau de mer suffit largement à couvrir les besoins des populations les plus denses de phytoplancton qui ont été observées, exception faite, peut-être, pour les eaux décolorées. Des recherches plus récentes, effectuées dans des lacs par Ohwada et Taga (1972), permettent de penser que la production de vitamine B12 pourrait être le fait des Cyanophycées ; les Diatomées, responsables de celle de la biotine et de la thiamine, seraient assez généralement auxotrophes vis-à-vis de la vitamine B12, ce qui permet d'expliquer, dans les lacs considérés, la succession des populations.

Le cycle annuel des organismes capables de synthétiser les vitamines du groupe B12 est pratiquement inconnu. Les travaux qui ont été faits sur la vitamine B12 sont souvent accompagnés d'une analyse forcément succincte des populations qui permet seulement de soupçonner l'évolution annuelle des organismes effectuant cette synthèse. Ainsi, les recherches de Propp (1970) dans l'Arctique laissent penser que les organismes producteurs sont les bactéries des détritus, qui fournissent un maximum de vitamine B12 en automne. Bien que les cuvettes supralittorales de Méditerranée ne soient pas comparables aux eaux arctiques, il faut souligner que, dans les deux cas, la présence de détritus paraît avoir un effet favorable sur la production de vitamine B12, donc probablement sur les organismes producteurs. Ohwada et Taga (1972), dans le lac Sagami, font une analyse des populations beaucoup plus poussée et montrent que le maximum des Cyanophycées, qui se situe en été, correspond à un maximum de vitamine B12 ; cependant, la moitié des Cyanophycées testées requièrent

cette vitamine. D'autre part, aucune relation entre les organismes producteurs et la flore totale hétérotrophe n'a pu être relevée par ces auteurs. Dans le présent travail, on a pu observer que ces relations n'apparaissent que si l'on envisage la vitesse de multiplication de la microflore hétérotrophe et qu'il n'y a pas de relations apparentes avec le nombre total de germes.

Pour conclure cette brève revue de l'évolution annuelle des organismes faisant la synthèse des vitamines en eau de mer et dans les flaques supralittorales, on peut dire que l'évolution de la vitesse de multiplication de la microflore est liée à la fois à l'évolution du phytoplancton (Vacelet, 1969) et à celle de la microflore synthétisant les vitamines ; les poussées de phytoplancton sont donc accompagnées d'une poussée de ces germes. L'examen comparé de l'évolution annuelle de la vitamine B12 et de ces cycles planctoniques devrait permettre de vérifier si cette vitamine est le médiateur de ces relations.

Conclusion

Les organismes capables d'effectuer la synthèse de la vitamine B12 et d'en libérer dans le milieu sont présents dans les flaques supralittorales et dans l'eau de mer littorale et appartiennent aux bactéries, champignons et levures.

Les bactéries donnant des vitamines sont présentes à la concentration de 0 à 10^7 germes/ml dans les flaques et de 10^2 à 10^7 germes/ml en eau de mer libre. L'évolution annuelle est tout à fait comparable à celle de l'ensemble de la microflore hétérotrophe et plus précisément à celle de la vitesse de multiplication de la flore totale. Ces bactéries sont plus abondantes pendant la saison chaude et dans les flaques, ce qui permet de penser qu'elles sont favorisées par les fortes températures ou par les fortes concentrations en matières organiques, telles qu'il s'en présente dans le fond des cuvettes.

Les champignons et levures synthétisant les vitamines sont présents à la concentration de 0 à 10^4 germes/ml en mer et de 0 à 10^6 germes/ml dans les flaques. L'évolution annuelle de ce groupe est indépendante de celle de la flore totale et présente même une certaine opposition avec elle : des phénomènes qui relèvent probablement d'un antagonisme ont pu être observés en mer en particulier. Il n'est pas certain que ce groupe se comporte comme les bactéries et libère des vitamines dans le milieu ; les vitamines pourraient être plus strictement liées aux cellules.

Summary

The role of vitamins in bacterial-plankton relationships in littoral sea-water and in supralittoral pools. II. Annual evolution of the organisms which produce vitamin synthesis.

Occurrence of vitamins synthesising organisms in supralittoral rockpools and inshore waters has been investigated; they belong to bacteria, fungi and yeasts. The seasonal changes of bacteria releasing vitamins are highly related to the heterotrophic microflora as a whole and specially to the variations of the « activity index » of bacteria (i.e. to the growth rate of bacterial population). The annual changes of fungi and yeasts show some opposition to the bacteria ones, but bacteria, fungi and yeasts seem to be enhanced by high temperatures and strong concentrations of organic matter.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ABOU-ZEID, A.Z., 1972. — Production of vitamin B 12 by *Streptomyces* spp. *Indian J. exper. Biol. India*, 10 (2), pp. 155-157.
- BURKHOLDER, P.R., BURKHOLDER, L.M., 1956. — Vitamin B 12 in suspended solids and marsh muds collected along the coast of Georgia. *Limnol. Oceanogr.*, 1 (1), pp. 202-208.
- CARLUCCI, A.F., BOWES, P.M., 1970. — Production of vitamin B 12, thiamin and biotin by phytoplankton. *J. Phycol.*, 6 (4), pp. 351-356.
- CARLUCCI, A.F., BOWES, P.M., 1970. — Vitamin production and utilization by phytoplankton in mixed culture. *J. Phycol.*, 6 (4), pp. 393-400.
- CHRÉTIENNOT, M.J., 1971. — Etude systématique et évolution des populations nanoplanctoniques de flaques supralittorales de la région marseillaise. *Thèse Doctorat 3^e cycle, Aix-Marseille*.
- DROOP, M.R., 1957. — Vitamin B 12 in marine ecology. *Nature*, 180, pp. 1041-1042.
- GANDHI, N.M., FREITAS, Y., 1964. — The production of vitamin B 12-like substances by marine microorganisms. I. General survey. *Proc. indian Acad. Sci.*, 59, pp. 33-46.
- LOCHHEAD, A.G., 1957. — Qualitative studies of soil microorganisms. XV. Capability of the predominant bacteria flora for synthesis of various growth factors. *Soil Sci.*, 84, pp. 395-403.
- LOCHHEAD, A.G., 1958. — Soil bacteria and growth-promoting substances. *Bact. Rev.*, 22, pp. 145-153.
- MARTIN, J.L.Y., 1972. — Mise au point d'une méthode de dosage biologique de la vitamine B 12. Application dans une flaque supralittorale. *Thèse Doctorat 3^e cycle, Aix-Marseille*.
- OHWADA, K., TAGA, N., 1972. — Vitamin B 12, thiamin and biotin in Lake Sagami. *Limnol. Oceanogr.*, 17 (2), pp. 315-320.
- PROPP, L.N., 1970. — Seasonal dynamics of vitamin B 12 and phytoplankton viability in the Dalnezelenetskaya guba (inlet) of the Barents Sea. *Okeanologiya*, 10 (5), pp. 851-857.
- STARR, T.J., JONES, ME, MARTINEZ, D., 1957. — The production of vitamin B 12 active substances by marine bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, 2 (2), pp. 114-119.
- VACELET, E., 1959. — Etude physico-chimique des flaques supralittorales à salinité variable. Relations avec les peuplements. *Rec. Trav. St. mar. Endoume*, 29 (Bull. 17), pp. 5-88.
- VACELET, E., 1969. — Rôle des populations phytoplanctoniques et bactériennes dans le cycle du phosphore et de l'azote en mer et dans les flaques supralittorales du Golfe de Marseille. *Téthys*, 1 (1), pp. 1-105.