

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

**III - RELATION ENTRE LA QUANTITÉ DE VITAMINE B12
ET LES PEUPLEMENTS QUI EN FONT LA SYNTHÈSE.**

par

Jean-Louis Y. Martin et Eveline Vacelet
Station marine d'Endoume, 13007 Marseille

Résumé

Les relations entre la quantité de vitamine B 12 présente dans les flaques supralittorales, le nombre d'organismes capables d'en faire la synthèse et l'évolution du phytoplancton sont examinés. Il existe une relation satisfaisante entre la présence de bactéries synthétisant les vitamines et la quantité de vitamine B 12 ; les champignons et levures paraissent moins importants dans la production de cette vitamine. Chaque poussée de phytoplancton est accompagnée d'une poussée de bactéries hétérotrophes produisant des vitamines ; on peut ainsi considérer que les organismes auxotropes du plancton trouvent dans leur milieu une quantité de vitamines qui est en général suffisante, puisqu'elle n'est affectée par la consommation que dans le cas de populations très denses (fin du printemps et été). La concentration en vitamine B12 paraît être une conséquence de l'activité planctonique plutôt qu'un facteur du déclenchement des poussées ou de leur ampleur. Elle est sans doute un des facteurs des relations bactéries-plancton mais la vitesse de circulation de la matière organique dissoute durant les poussées de phytoplancton est probablement plus importante.

Introduction

Au cours de publications précédentes, les auteurs ont étudié successivement les variations annuelles de la concentration en vitamine B 12 (Martin, 1973) ainsi que les variations annuelles et l'écologie de la microflore bactérienne et fongique capable de faire la synthèse des vitamines (Vacelet, 1973). Certains faits sont à retenir en ce qui concerne les relations bactéries-plancton :

- les variations annuelles de la quantité de vitamine B 12 sont liées aux grandes périodes d'activité planctonique ;
- les peuplements bactériens capables de faire la synthèse de leurs vitamines ont une évolution annuelle comparable à celle de l'ensemble de la microflore hétérotrophe du point de vue vitesse de multiplication, ce dernier paramètre étant lui-même lié à l'évolution du peuplement planctonique (Vacelet, 1969).

Il reste à examiner si les données relatives à la vitamine B 12 permettent de conclure que cette substance et ses dérivés dosables par *Monochrysis lutheri* peuvent être des intermédiaires de ces relations bactéries-plancton.

Matériel et méthode

La méthode de dosage des vitamines et celles qui permettent d'étudier le peuplement bactérien ont été décrites dans les notes précédentes (Vacelet, 1973 ; Martin, 1973).

Le petit nombre de données sur la vitamine B12 concernant la période étudiée du point de vue bactériologique n'a pas permis l'établissement de corrélations significatives entre la quantité de vitamines B12 et le nombre de germes qui en font la synthèse, d'une part, et la vitesse de croissance de la flore totale, d'autre part. Par contre, l'évolution annuelle des différentes données et certains points particuliers ont été examinés. Pour l'évolution du phytoplancton, on se référera aux travaux antérieurs sur les flaques supralittorales (Vacelet, 1969 ; Chrétiennot, 1971). L'ensemble des résultats est présenté dans les figures 1 et 2, respectivement pour la surface et le fond.

RÉSULTATS

Les données sur la microflore totale et sur les germes donnant des vitamines manquent de décembre à mars : pendant cette période, la quantité de vitamine B12 passe de 26 µg/litre à des valeurs inférieures à 5 µg/litre. Les travaux antérieurs sur les flaques montrent que cette période correspond à une diminution des peuplements phytoplanctoniques et à une chute de la vitesse de croissance des bactéries hétérotrophes de la flore totale, ces phénomènes étant liés à la baisse hivernale de la température. Aucune perturbation exceptionnelle n'étant intervenue pendant l'année considérée pour modifier cette évolution normale, il est très probable que la diminution de la concentration en vitamine B12 se produit en même temps que la diminution des peuplements phytoplanctoniques et bactériens (y compris les producteurs de vitamines). De plus, dans les cuvettes, la diminution du nombre de germes de la flore totale est plus marquée en profondeur et l'on constate précisément que les concentrations en vitamine B12 en surface et au fond sont respectivement de 25,6 µg/litre et de 7,2 (µg/litre en décembre ; la diminution de la concentration en B12 s'est déclenchée plus rapidement au fond, comme cela se produit habituellement pour les peuplements. En mars, la reprise des peuplements bactériens (donc des producteurs de vitamine) et phytoplanctoniques se fait plus rapidement en surface, du fait d'un réchauffement plus rapide ; dans ce cas, on a encore une augmentation plus rapide en surface du taux de la vitamine B12 (février en surface, mars au fond).

Les périodes printanière et post-printanière sont marquées, dans les flaques, par une forte densité de germes de la flore totale et par une forte activité ; elles sont également caractérisées par de fortes concentrations en vitamine B12. Ces concentrations diminuent au fond plus tôt qu'en surface alors qu'aux deux niveaux de la plaque, les bactéries synthétisant les vitamines sont aussi abondantes qu'au début

du printemps. Il est vraisemblable qu'à ce stade l'utilisation des vitamines par un peuplement végétal à son apogée (surtout au fond où l'on observe des feutrages de diatomées très denses) est plus forte que la production. La faiblesse des concentrations en vitamine B12 observées au début de l'été peut s'expliquer aussi par une destruction sous l'influence de la chaleur et de la lumière solaire (Carlucci *et al.*, 1969)

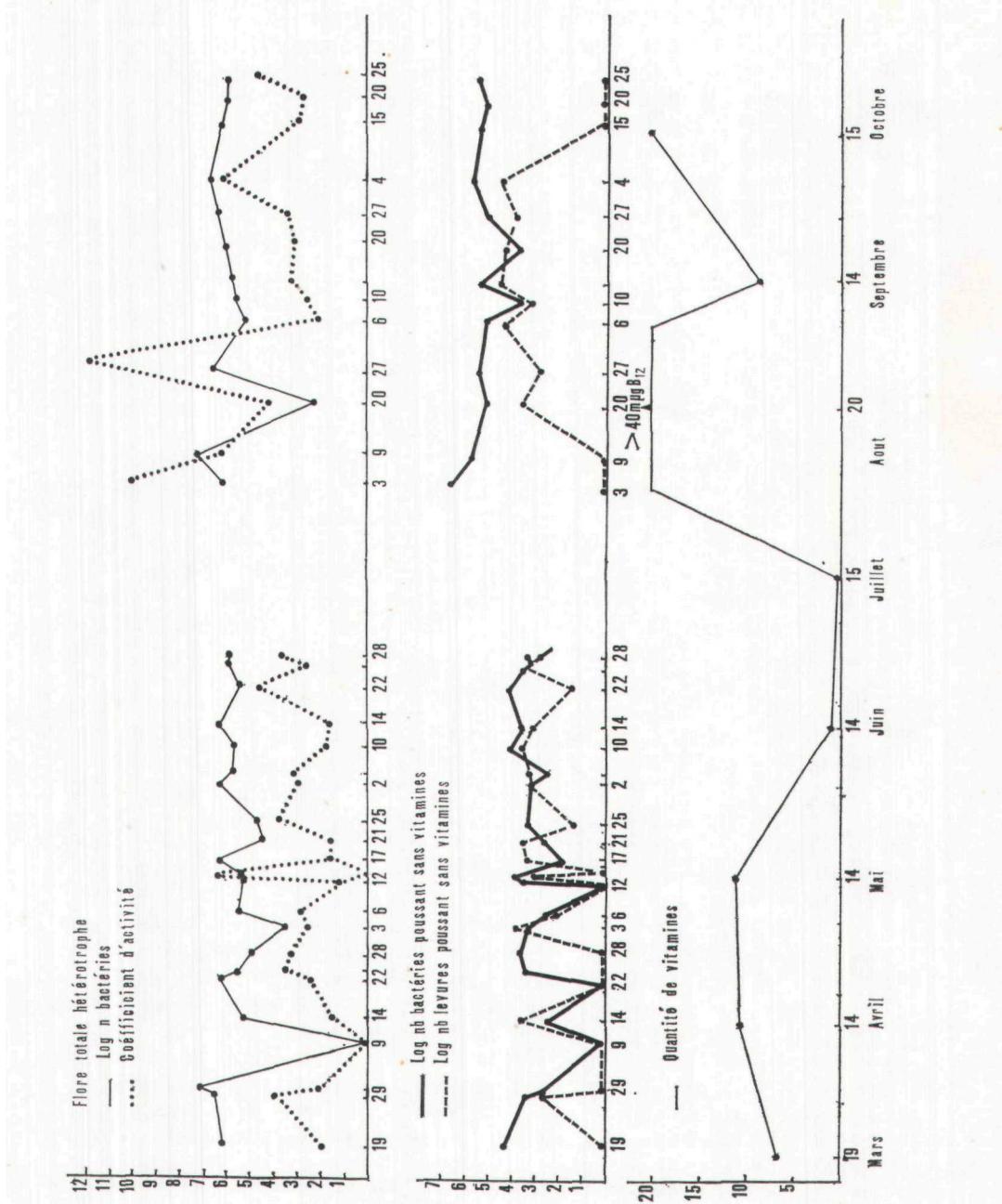


FIG. 1

Evolution annuelle de la microflore et de la quantité de vitamine B 12
dans une flaue en surface.

auxquelles les flaques sont soumises pendant cette période qui correspond au maximum d'ensoleillement.

La concentration exceptionnelle du 20 août est accompagnée par une densité des germes produisant des vitamines, qui atteint 10^5 germes/ml, mais correspond aussi à la diminution de la poussée d'été de la flore totale, donc probablement à celle des peuplements végétaux et ainsi à une diminution de la consommation. La fin de la poussée d'été, le 10 septembre, coïncide avec un minimum de la vitamine B12, mais aussi avec une chute du nombre de germes qui en font la synthèse (10^3 germes/ml). La concentration augmente à nouveau, au moins en surface, avec la poussée d'automne des germes donnant des vitamines ; la concentration des consommateurs est alors assez faible pour ne pas altérer les relations apparentes entre nombre de germes et concentration en vitamine.

DISCUSSION

Ces observations, bien qu'incomplètes, permettent de dégager quelques conclusions :

sur les relations entre la quantité de vitamine B12 et le nombre des organismes qui en font la synthèse : certains pics de la microflore productrice correspondent à des maximums de la concentration en vitamines et les fortes densités estivales des germes producteurs correspondent aux plus fortes valeurs de la concentration en B12 ; en ce qui concerne les champignons et les levures, leur production vient probablement s'ajouter à celle des bactéries dans certains cas (20 août) mais, la plupart du temps, les bactéries seules semblent assurer la production de vitamine B12 (du 12 au 14 mai, du 3 au 9 août, du 15 au 25 octobre) ;

sur la quantité de vitamine B12 présente dans les flaques et l'évolution des peuplements planctoniques (phytoplancton et bactéries hétérotrophes) : au début des poussées, il est certain que la quantité de vitamine B12 paraît être davantage la conséquence de l'activité des peuplements qu'un facteur de leur déclenchement ou de leur ampleur. Quand les peuplements ont atteint leur maximum de développement, la consommation est assez forte, dans le cas des poussées post-printanière et estivale, pour amener une diminution de la concentration en vitamine B12, malgré la présence de fortes densités d'organismes producteurs. Il ne s'ensuit d'ailleurs pas une chute du peuplement. Cette importante consommation peut être attribuée à la présence des diatomées, ce qui permet de penser que la composition des peuplements est déterminante dans l'importance de la consommation. Dans le cas des poussées d'automne et de printemps, la densité des organismes producteurs de vitamines est assez élevée, ou celle des auxotrophes assez faible, pour que la concentration des vitamines ne paraisse pas affectée par la consommation ; là encore, le déclin des poussées doit être attribué à la température en premier lieu.

En réalité, on a une forte similitude d'évolution, d'une part entre la microflore totale et le phytoplancton et, d'autre part, entre la micro-

flore totale et la microflore productrice de vitamines, si bien que le phytoplancton paraît être son propre producteur de vitamines. Les données de la littérature sur les cultures montrent que, dans une certaine mesure, le phénomène n'est pas exclu.

Il convient donc d'examiner les différentes conclusions de ce travail à la lumière de ces données.

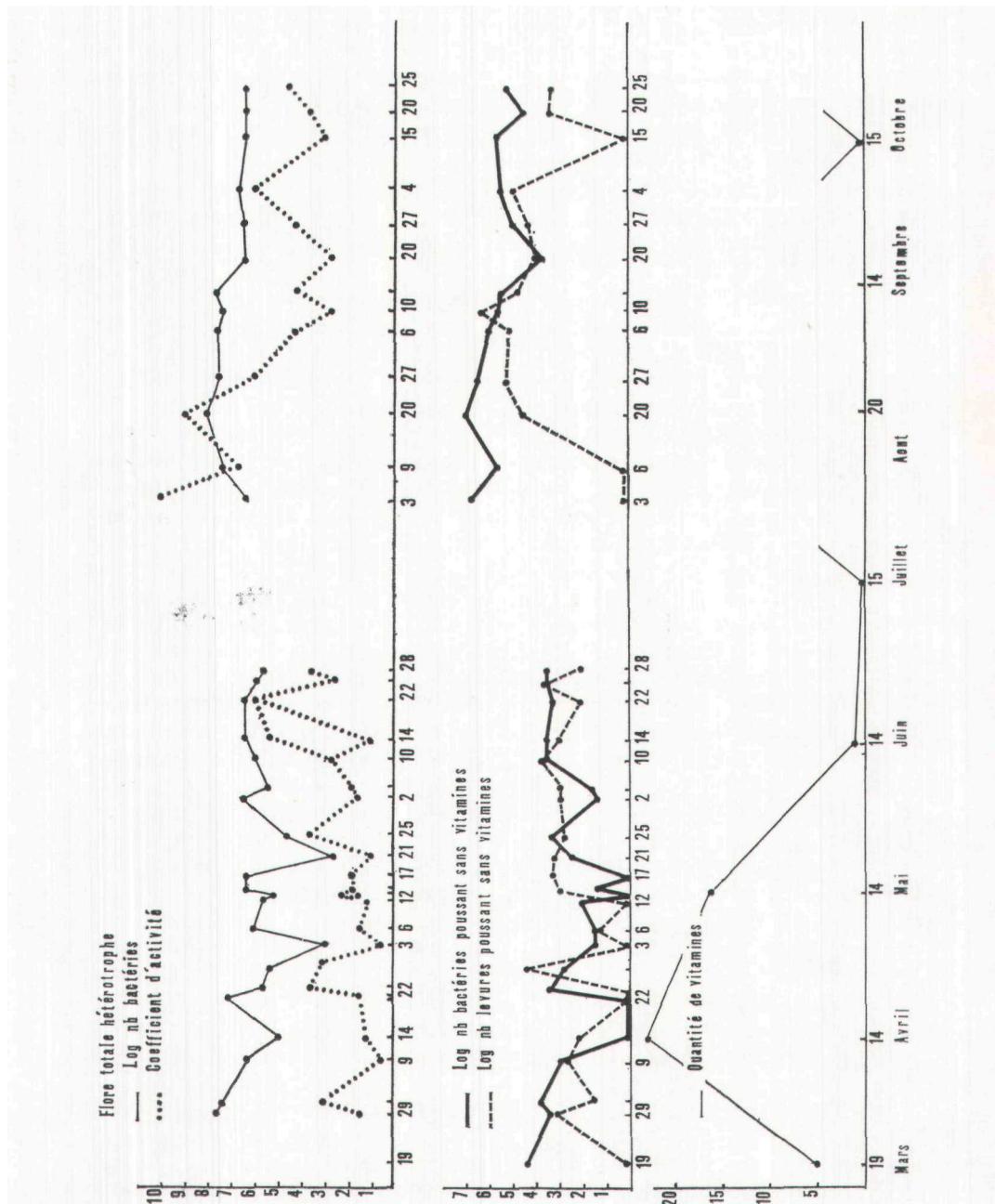


FIG. 2
Evolution annuelle de la microflore et de la quantité de vitamine B 12 dans une flaque en profondeur.

Parmi ces données, celles qui concernent l'influence du phytoplancton sur la concentration en vitamine B12 sont les plus nombreuses. Dès 1956, Burkholder et Burkholder notent que la quantité de vitamine B12 est en relation avec la densité de la matière organique en suspension dans l'eau de mer. Kashiwada et al. (1957 et 1960) signalent, au cours de croisières dans le Pacifique, une distribution verticale de la vitamine B12 qui rappelle celle de la chlorophylle a ou du phytoplancton, ou même celle de la productivité par le ^{14}C , y compris les fluctuations très rapides dans les 50 premiers mètres. Au cours d'un cycle annuel, dans les eaux de Long Island Sound, Vishniac et Riley (1961) observent une diminution marquée de la vitamine B12 après la dernière poussée de printemps et une augmentation en été, ce qui rappelle les observations faites dans ce travail, dans un milieu bien différent ; les auteurs en tirent les mêmes conclusions, à savoir que la distribution de la cobalamine et des composés voisins reflète, mais ne limite pas, la croissance du phytoplancton. Menzel et Spaeth (1962) notent une correspondance entre le cycle annuel de la vitamine B12 et celui de la production primaire par le ^{14}C ; pour ces auteurs, le facteur limitant n'est pas la B12 mais elle intervient peut-être dans le contrôle des espèces du phytoplancton. L'utilisation d'un nouvel organisme test, *Cyclotella nana*, par Carlucci et Silber-nagel (1966) conduit aux mêmes conclusions en ce qui concerne la distribution verticale de la vitamine B12 : faible en surface, forte dans les profondeurs intermédiaires, elle est à nouveau faible au-dessous de 150 mètres, donc liée, sinon à la présence du phytoplancton lui-même, du moins à la présence de matières organiques en suspension. Parmi les facteurs du milieu auxquels Ohwada et Taga (1969) ont essayé de relier la distribution de la vitamine B12, le plus satisfaisant se révèle être la perte par ignition, donc la matière organique non encore minéralisée. Dans une station côtière de Californie, Carlucci (1970) observe une diminution de la concentration en B12 de mai à juin et une augmentation en été, le maximum étant observé au mois d'août, comme dans le présent travail, en coïncidence avec un phytoplancton dense. Pour cet auteur, il n'y a pas de preuve statistique qui indique que la concentration en vitamine B12 limite la production du phytoplancton, bien que certaines espèces puissent individuellement en être affectées ; le seul cas d'utilisation massive que l'on puisse envisager serait lié à la croissance de *Gonyaulax polyedra*, ce qui rejoint l'opinion de Droop (1957) tirée d'observations sur les cultures et les résultats de ce travail sur les cuvettes supralittorales où l'on a pu observer de fortes densités de populations de diatomées, en particulier. Il est rare de pouvoir mettre en évidence une telle consommation *in situ* ; Propp (1970) a pu attribuer une diminution du taux de la B12 à des diatomées dans la Mer de Barentz ; de même Ohwada et Taga (1972) en milieu lacustre ; mais, ni la consommation des Cyanophycées (Van Baalen, 1961), ni celle des bactéries (Adams et Stokes, 1968), ni celle de certains champignons (Adair et Vishniac, 1958) n'a pu être détectée.

La liaison entre l'évolution ou la distribution du phytoplancton et la vitamine B12 n'a reçu en général aucune explication de la part des auteurs qui l'ont observée. Elle ne peut être attribuée qu'en partie à une production par le phytoplancton lui-même, bien que nombre de ses représentants fassent la synthèse de vitamines en quantité appréciable.

ciable (Carlucci et Bowes, 1970 a et b). La présence de bactéries produisant des vitamines est souvent évoquée et les numérations qui ont été faites (Vacelet, sous presse) pour ces germes justifient cette hypothèse. Mais les relations bactéries-phytoplancton sont réciproques. En effet, on a vu que les bactéries synthétisant les vitamines étaient favorisées durant les périodes ou dans des localisations où les matières organiques sont abondantes (Starr, 1956 ; Propp, 1970). Comme pour l'ensemble de la microflore hétérotrophe, une poussée de phytoplancton représente, pour les bactéries donnant des vitamines, une libération accélérée de matières organiques dans l'eau de mer, d'abord pendant la croissance elle-même puis par autolyse à la mort des cellules. Ces relations bactéries-plancton ont encore un autre aspect qui dépend des vitamines ; c'est l'influence de ces substances sur la vitesse de croissance des organismes planctoniques. On a vu que la densité des germes donnant des vitamines influençait la vitesse de croissance de l'ensemble de la microflore hétérotrophe et l'on sait que les organismes du phytoplancton sont affectés dans leur croissance par la vitamine B12 dont la production est à son tour accélérée par la production des métabolites externes. Une poussée de plancton est un phénomène qui s'accélère par le jeu des relations réciproques entre bactéries et phytoplancton mais qui paraît soumis à certaines régulations : tout d'abord la consommation de vitamine peut être excessive ; c'est en quelque sorte une consommation de luxe ; ce phénomène transitoire du début de la croissance permet aux cellules d'emmagasser assez de vitamine B12 pour assurer une croissance maximale (Droop, 1970) et, d'autre part, la quantité de vitamine utilisable est limitée par la sécrétion d'un composé « fixateur » par les cellules en phase stationnaire (Droop, 1968). Ces données concernent des cultures mais sont confirmées par certains résultats de dosages de vitamine qui impliquent l'existence, dans l'eau de mer, d'un inhibiteur de l'utilisation de la B12.

CONCLUSIONS

Il a longtemps été admis que la présence de bactéries dans l'eau de mer était fonction de la quantité de matières organiques et que les poussées de bactéries succédaient à celles du phytoplancton. Des méthodes plus précises et mieux adaptées aux bactéries marines, l'utilisation de données sur la vitesse de croissance de ces germes et la pratique de prélèvements plus fréquents montrent que l'activité des bactéries marines hétérotrophes est synchrone de celle du phytoplancton (Vacelet, 1969) ; l'hypothèse avancée par cet auteur est que les organismes du phytoplancton étant auxotrophes, et les bactéries produisant des vitamines, une poussée de ces dernières induit la poussée du phytoplancton. Dans le présent travail, l'examen de l'évolution annuelle des bactéries donnant des vitamines et de la concentration en B12 montre qu'il existe, en effet, une bonne relation entre ces germes, le taux de B12 et les développements planctoniques, sauf dans le cas de populations planctoniques très denses où la consommation tend à faire diminuer la quantité de vitamine. La corres-

pondance est même si accentuée que la question peut se poser de savoir si le phytoplancton lui-même ne serait pas un producteur de vitamine, au moins au début des poussées et n'agirait pas sur le développement des bactéries hétérotrophes en produisant une active circulation de matières organiques, de phosphates et même de nitrites ; les bactéries produiraient à leur tour des vitamines dont la concentration serait alors une conséquence plus qu'une cause du développement planctonique. Les données de la littérature montrent que certains organismes planctoniques sont, en effet, capables de synthétiser des vitamines et que les bactéries auxotrophes existent. On a donc, entre les bactéries et le phytoplancton, des relations à bénéfice mutuel qui ne sont probablement pas constantes et identiques au cours de l'évolution d'une poussée planctonique.

Summary

The role of vitamins in bacterial-plankton relationships in littoral seawater and in supralittoral pools. III. - Relationships between the amount of vitamin B 12 and the populations which synthetize it.

The relations between B 12 concentration in the supralittoral rockpools, the number of vitamin synthetising organisms and the phytoplankton evolution have been investigated. The B 12 concentration is apparently related to the number of vitamin synthetising bacteria; fungi and yeasts being less important for the vitamin production. To each phytoplankton bloom corresponds a bloom of heterotrophic bacteria producing vitamins, so that we may consider that the auxotrophic organisms of plankton usually find the B 12 concentration they need in their environment, since this concentration is depleted by uptake only during the very luxuriant blooms of phytoplankton of late spring and summer. The B 12 concentration seems to be the consequence of planctonic activity rather than the origin or the enhancement of phytoplankton blooms. The bacteria-plankton relations may be partly dependent upon B 12 production, but the rate of release of organic matter by plankton during its growth mainly is suspected to be more decisive.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ADAIR, E.J., VISHNIAC, H.S., 1958. — Marine fungus requiring B 12. *Science*, 127, pp. 147-48.
- ADAMS, J.c., STOKES, J.B., 1968. — Vitamin requirement of psychrophilic species of *Bacillus*. *J. Bact.*, 95 (1), pp. 239-240.
- 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., 1970. — Vitamin B 12, thiamin and biotin. In : The ecology of the plankton off La Jolla, California, in the period aprii through September 1967, pp. 23-31. Ed. J.D.H. Strickland, California, Univ. Calif. Press.
- CARLUCCI, A.F., SILBERNAGEL, S.B., 1966. — Bioassay of seawater. III. Distribution of vitamin B 12 in the northeast Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 11 (4), pp. 642-645.
- CARLUCCI, A.F., MC NALLY, P.M., 1969. — Influence of temperature and solar radiation on vitamin B 12, thiamin and biotin in seawater. *J. Phycol.*, 5 (4), pp. 302-305.
- 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 cultures. *J. Phycol.*, 6 (4), pp. 393-400.
- CHRÉTIENNOT, M.J., 1971. — Etude systématique et évolution des populations nano-planctoniques 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*, London, 180, pp. 1041-1042.
- DROOP, M.R., 1968. — Vitamin B 12 in marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. mar. biol. Assoc., U.K.*, 48 (3), pp. 689-733.
- DROOP, M.R., 1970. — Vitamin B 12 in marine ecology. V. Continuous culture as an approach to nutrition. *Helgol. Wissenschaft. Meerest.*, 20 (1-4), pp. 629-636.
- KASHIWADA, K.D., KAKIMOTO, T., MORITA, A., KANAZAWA, A., KAWAGOE, K., 1957. — Studies on vitamin B 12 in seawater. II. On the assay method and the distribution of vitamin B 12 in the ocean. *Bull. jap. Soc. sc. Fish.*, 22 (10), pp. 637-640.
- KASHIWADA, K.D., KAKIMOTO, T., KANAZAWA, A., 1960. — Studies on vitamin B 12 in natural water. *Rec. oceanogr. Wks Jap.*, 5, pp. 71-76.
- MARTIN, J.L.Y., 1972. — Mise au point d'une méthode de dosage biologique de la vitamine B 12. Application dans une plaque supralittorale. *Thèse Doctorat 3^e cycle, Aix-Marseille*.
- MENZEL, D.W., SPAETH, J.P., 1962. — Occurrence of vitamin B 12 in the Sargasso Sea. *Limnol. Oceanogr.*, 7 (2), pp. 151-155.
- NATARAJAN, K.V., 1970. — Distribution and significance of vitamin B 12 and thiamin in the subarctic Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 15 (4), pp. 655-659.
- OHWADA, K., TAGA, N., 1969. — Distribution of vitamin B 12, thiamin and biotin in marine sediments. *J. oceanogr. Soc. Japan*, 25, pp. 123-136.
- 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 Dalnezelznetskaya Guba (inlet) of the Barents Sea. *Okeanologiya*, 10 (5), pp. 51-57.
- PROVASOLI, L., 1963. — Organic regulation of phytoplankton fertility. In : The Sea, vol. II, Hil ed., John Wiley and Sons, N.Y., pp. 165-219.
- STARR, T.J., 1956. — Relative amounts of vitamin B 12 in detritus from oceanic and estuarine environments near Sapelo Island, Georgia. *Ecology*, 37 (4), pp. 658-664.
- VACELET, E., 1969. — Rôle des populations phytoplanctoniques et bactériennes dans le cycle du phosphore et de l'azote en mer et dans les plaques supralittorales du Golfe de Marseille. *Téthys*, 1 (1), pp. 1-105.
- VACELET, E., 1975. — Le rôle des vitamines dans les relations bactéries-plancton en eau de mer littorale et dans les plaques supralittorales. II. Evolution annuelle des organismes effectuant la synthèse des vitamines. *Cah. Biol. Mar.*, 16, pp. 383-394.
- VAN BAAREN, C., 1961. — Vitamin B 12 requirement of a marine blue-green algae. *Science*, U.S.A., 133, 3468, pp. 1922-1923.
- VISHNIAC, H.S., RJLEY, G.A., 1961. — Cobalamin in Long Island Sound: patterns of distribution and ecological significance. *Limnol. Oceanogr.*, 6 (1), pp. 36-41.