

Écologie microbienne en milieu aquatique : des virus aux protozoaires

Microbial ecology in aquatic systems: a review from viruses to protozoa

C. Amblard, J. C. Boisson, G. Bourdier, D. Fontvieille, X. Gayte and T. Sime-Ngando

Volume 11, Special Issue, 1998

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/705336ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/705336ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (print)

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Amblard, C., Boisson, J. C., Bourdier, G., Fontvieille, D., Gayte, X. & Sime-Ngando, T. (1998). Écologie microbienne en milieu aquatique : des virus aux protozoaires. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 11, 145–162. <https://doi.org/10.7202/705336ar>

Article abstract

Recent advancements in the ecology of aquatic microbial communities, i.e. from viruses to protozoa, are summarized in this paper. The abundance and both taxonomic and functional diversities of microorganisms in the sea and in inland waters indicate that microbes play a key role in nutrient cycling and energy flows in aquatic ecosystems. In recent years, aquatic microbiology has indeed undergone profound changes due to the improvement of methods for identifying, counting, and assaying biochemical composition and metabolic activities of aquatic microbial assemblages. Specifically, the impact of new developments in microscopy (e.g. epifluorescence, immunofluorescence...) and in cell and molecular biology has allowed to realize that microbes are omnipresent in aquatic systems (including extreme environments such as Arctic, Antarctic, Deep ocean, Hydrothermal vents...)

Derived from direct counting under epifluorescence microscope that is able to visualize cellular pigment autofluorescence, recent total numbers of pelagic microbes generally vary from 105 and 102 cells ml⁻¹ in oligotrophic systems, to 107 and 105 cells ml⁻¹ in productive waters, for heterotrophic bacteria and heterotrophic flagellated protists, respectively. These bacterial numbers are significantly higher than previous estimates, derived from the indirect method of growing bacterial cells in selective culture medium. The use of adequate fixatives has allowed the counting of ciliated protozooplankton (range: < 1 - 50 cells ml⁻¹) under inverted microscope. The use of artificial or natural fluorescent tracers now allows, via direct microscopic observation of protistan digestive vacuoles or the alimentary tract of some metazoa, the quantification of matter flows in the aquatic microbial webs. Besides, the coupling between fluorochrome dyeing of aquatic microbes and flow cytometric analyses allows to measure the cell size and abundance of the tiniest planktonic single-celled organisms, and to characterize some cellular constituents (e.g. ADN, protein...) or functions (e.g. membrane potential, enzymatic activity...). Other methodological improvements of the identification, counting, and assaying the biochemical composition of aquatic microorganisms come (1) from the separative chromatography that allows to describe the in situ biochemical composition of microbial communities, and to have access to a qualitative measurement of matter flows within aquatic microbial compartments, and (2) from the use of rRNA-targeted oligonucleotide probes that allows, after amplification by the polymerase chain reaction, to detect and quantify individual species in natural assemblages of microbial organisms (i.e. bacterio- and protozooplankton). Concerning the assessment of metabolic activity, a method based on short-term incubations of water samples in the presence of radiolabeled compounds, primarily 3H-thymidine and 3H-leucine, has been widely developed and used during the few past years, to measure bacterial production in aquatic systems.

In the light of the above recent methodological improvements, it appears that aquatic microbial communities form complex food webs in which heterotrophic bacteria play a key role. These organisms decompose particulate matter or polymeric dissolved compounds, and rapidly utilize simple organic molecules. However, depending on their qualitative characteristics, some of these simple dissolved substrates can accumulate during certain times or in some aquatic environments. This has been related to several hypothesis, including the higher diversity of natural organic molecules compared to the bacterial enzymatic pool, chemical constraints during microbial incorporation of substrates, and the fact that organic molecules can become refractory before utilization by ambient bacteria. Because bacterial metabolic efficiencies can vary widely both intra- and interspecifically, it is proposed that the ecology of aquatic bacteria should gain in substance if considering functional groups (separated by criteria such as energy sources, ...) rather than taxonomic groups.

The seasonal abundances of pelagic bacteria are regulated by several factors, including temperature, resources, and predation. The general significant correlation between bacterial and primary production in both fresh- and marine waters suggests that organic substrates from algal exudation regulate bacterial communities. However, uncoupling between bacterial and algal production has been reported for some aquatic environments and during some times. It is now well known that bacteria and phytoplankton can compete for the same substrate source (including mineral nutrients). The accumulation of biodegradable dissolved organic carbon (DOC) in the euphotic zone of oligotrophic marine systems imply that factors other than substrate availability can regulate bacterial production. For example, in situ and experimental studies have recently demonstrated that mineral phosphorus (PO₄) can limit bacterial growth in lakes where both autochthonous and allochthonous DOC are prevalent. Limitation of bacteria by mineral P and N has also been reported in marine systems. Besides, the relatively constant ratio between bacterial and phototrophic flagellate abundances in pelagic fresh- and marine waters has been interpreted as the result of the impact of bacterivorous protist (mainly represented by flagellated protists) activity on bacterioplankton seasonal abundance. Both in situ and experimental essays have indeed shown that a flagellate can ingest from 10 to 250 bacteria hour⁻¹. Protozooplankton bacterivory is actually considered the root of a system, i.e. the microbial loop (dissolved organic matter → bacteria → protozoa...), that can act as a significant mediator of energy transfer to the upper trophic levels, by recovering part of the primary production that would otherwise be lost from the system. Part of protistan grazing activity is from mixotrophic protists whose, in some lakes and during certain seasons, can dominate the total bacterivory. In general, predator-prey interactions among protists are as complex as those among metazoa, and chemical communications may operate as well as behavioral and polymorphic adaptations.

Even though the contribution of water ecosystems for disseminating enteric viral pathogens has been known for decades, the importance of wild viruses in structuring aquatic communities and food webs has only come to light relatively recently. Evidences of viral infections in both pro- and eukaryotic phytoplankton, as well as in heterotrophic bacterio- and protozooplankton, have recently brought marine biologists to question the impact of viroplankton on processes such as

1. the mortality of microorganisms,
2. the nutrition of heterotrophic protists,
3. the promotion of genetic material exchanges among microbial populations,
4. the maintenance of species diversity,
5. the induction of planktonic aggregates, and
6. the cycling of organic matter in aquatic ecosystems.

Viruses undoubtedly influence to various degrees the biological processes in aquatic ecosystems, although almost all studies on the ecology of pelagic viruses are done during a limited period of year, mainly in marine waters situated in temperate zones.

Finally, despite the manifest significance of new findings in the field of aquatic microbial ecology, about 90% of microorganisms present in the environment have not yet been described. Therefore, the understanding of the interactions within microbial communities in relation to the functional dynamics of ecosystems remains of major interest for the future. We conclude that this task is to be included on the agenda of both marine and freshwater biologists as a high priority concern for the near future, partly because aquatic microbes constitute a major compartment for the biogeochemical cycles of elements in the biosphere.

Écologie microbienne en milieu aquatique : des virus aux protozoaires

Microbial ecology in aquatic systems:
a review from viruses to protozoa

C. AMBLARD^{1*}, J.C. BOISSON², G. BOURDIER¹, D. FONTVIEILLE³, X. GAYTE³,
T. SIME-NGANDO¹

SUMMARY

Recent advancements in the ecology of aquatic microbial communities, *i.e.* from viruses to protozoa, are summarized in this paper. The abundance and both taxonomic and functional diversities of microorganisms in the sea and in inland waters indicate that microbes play a key role in nutrient cycling and energy flows in aquatic ecosystems. In recent years, aquatic microbiology has indeed undergone profound changes due to the improvement of methods for identifying, counting, and assaying biochemical composition and metabolic activities of aquatic microbial assemblages. Specifically, the impact of new developments in microscopy (*e.g.* epifluorescence, immunofluorescence...) and in cell and molecular biology has allowed to realize that microbes are omnipresent in aquatic systems (including extreme environments such as Arctic, Antarctic, Deep ocean, Hydrothermal vents...).

Derived from direct counting under epifluorescence microscope that is able to visualize cellular pigment autofluorescence, recent total numbers of pelagic microbes generally vary from 10^5 and 10^2 cells·m⁻¹ in oligotrophic systems, to 10^7 and 10^5 cells·ml⁻¹ in productive waters, for heterotrophic bacteria and heterotrophic flagellated protists, respectively. These bacterial numbers are significantly higher than previous estimates, derived from the indirect method of growing bacterial cells in selective culture medium. The use of adequate fixatives has allowed the counting of ciliated protozooplankton (range: < 1-50

1 Laboratoire de biologie comparée des protistes, UPRES A CNRS 6023, Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, Les Cézeaux, 63177 Aubière cedex, France.

2 École nationale des travaux publics de l'Etat, Laboratoire des Sciences de l'Environnement, 69518 Vaulx-en-Velin, France.

3 Groupe de recherche sur les échanges trophiques aux interfaces (GRETI), Université de Savoie, Campus Technolac, 73376 Le Bourget-du-Lac cedex, France.

* Correspondance.

cells·mL⁻¹) under inverted microscope. The use of artificial or natural fluorescent tracers now allows, via direct microscopic observation of protistan digestive vacuoles or the alimentary tract of some metazoan, the quantification of matter flows in the aquatic microbial webs. Besides, the coupling between fluorochrome dyeing of aquatic microbes and flow cytometric analyses allows to measure the cell size and abundance of the tiniest planktonic single-celled organisms, and to characterize some cellular constituents (e.g. ADN, protein...) or functions (e.g. membrane potential, enzymatic activity...). Other methodological improvements of the identification, counting, and assaying the biochemical composition of aquatic microorganisms come (1) from the separative chromatography that allows to describe the *in situ* biochemical composition of microbial communities, and to have access to a qualitative measurement of matter flows within aquatic microbial compartments, and (2) from the use of rRNA-targeted oligonucleotide probes that allows, after amplification by the polymerase chain reaction, to detect and quantify individual species in natural assemblages of microbial organisms (i.e. bacterio- and protoplankton). Concerning the assessment of metabolic activity, a method based on short-term incubations of water samples in the presence of radiolabeled compounds, primarily ³H-thymidine and ³H-leucine, has been widely developed and used during the few past years, to measure bacterial production in aquatic systems.

In the light of the above recent methodological improvements, it appears that aquatic microbial communities form complex food webs in which heterotrophic bacteria play a key role. These organisms decompose particulate matter or polymeric dissolved compounds, and rapidly utilize simple organic molecules. However, depending on their qualitative characteristics, some of these simple dissolved substrates can accumulated during certain times or in some aquatic environments. This has been relied to several hypothesis, including the higher diversity of natural organic molecules compared to the bacterial enzymatic pool, chemical constraints during microbial incorporation of substrates, and the fact that organic molecules can become refractory before utilization by ambient bacteria. Because bacterial metabolic efficiencies can vary widely both intra- and interspecifically, it is propose that the ecology of aquatic bacteria should gain in substance if considering functional groups (separated by criteria such as energy sources,...) rather than taxonomic groups.

The seasonal abundances of pelagic bacteria are regulated by several factors, including temperature, resources, and predation. The general significant correlation between bacterial and primary production in both fresh- and marine waters suggests that organic substrates from algal exudation regulate bacterial communities. However, uncoupling between bacterial and algal production has been reported for some aquatic environments and during some times. It is now well known that bacteria and phytoplankton can compete for the same substrate source (including mineral nutrients). The accumulation of biodegradable dissolved organic carbon (DOC) in the euphotic zone of oligotrophic marine systems imply that factors other than substrate availability can regulate bacterial production. For example, *in situ* and experimental studies have recently demonstrated that mineral phosphorus (PO₄) can limit bacterial growth in lakes where both autochthonous and allochthonous DOC are prevalent. Limitation of bacteria by mineral P and N has also been reported in marine systems. Besides, the relatively constant ratio between bacterial and phagotrophic flagellate abundances in pelagic fresh- and marine waters has been interpreted as the result of the impact of bacterivorous protist (mainly represented by flagellated protists) activity on bacterioplankton seasonal abundance. Both *in situ* and experimental assays have indeed shown that a flagellate can ingest from 10 to 250 bacteria hour⁻¹. Protozooplankton bacterivory is actually considered the root of a system, i.e. the microbial loop (dissolved organic matter → bacteria → protozoa...), that can act as a significant mediator of energy transfer to the upper trophic levels, by recovering part of the primary production that would otherwise be lost from the system. Part of protistan grazing activity is

from mixotrophic protists whose, in some lakes and during certain seasons, can dominate the total bacterivory. In general, predator-prey interactions among protists are as complex as those among metazoa, and chemical communications may operate as well as behavioral and polymorphic adaptations.

Even though the contribution of water ecosystems for disseminating enteric viral pathogens has been known for decades, the importance of wild virions in structuring aquatic communities and food webs has only come to light relatively recently. Evidences of viral infections in both pro- and eukaryotic phytoplankton, as well as in heterotrophic bacterio- and protozooplankton, have recently brought marine biologists to question the impact of viroplankton on processes such as (1) the mortality of microorganisms, (2) the nutrition of heterotrophic protists, (3) the promotion of genetic material exchanges among microbial populations, (4) the maintenance of species diversity, (5) the induction of planktonic aggregates, and (6) the cycling of organic matter in aquatic ecosystems. Viruses undoubtedly influence to various degrees the biological processes in aquatic ecosystems, although almost all studies on the ecology of pelagic viruses are done during a limited period of year, mainly in marine waters situated in temperate zones.

Finally, despite the manifest significance of new findings in the field of aquatic microbial ecology, about 90% of microorganisms present in the environment have not yet been described. Therefore, the understanding of the interactions within microbial communities in relation to the functional dynamics of ecosystems remains of major interest for the future. We conclude that this task is to be included on the agenda of both marine and freshwater biologists as a high priority concern for the near future, partly because aquatic microbes constitute a major compartment for the biogeochemical cycles of elements in the biosphere.

Key-words: aquatic systems, microbial ecology, viruses, bacteria, protozoa, microbial loop.

RÉSUMÉ

Par leur abondance et leur diversité taxonomique et fonctionnelle, les microorganismes jouent un rôle prépondérant dans les flux de matière et d'énergie au sein des écosystèmes aquatiques.

Au cours de ces dernières années, les progrès réalisés au niveau des techniques d'identification, de dénombrement et de mesure d'activité métabolique, notamment en microscopie à épifluorescence et en biologie moléculaire, ont permis d'entrevoir l'extraordinaire diversité des microorganismes aquatiques, l'étendue de leurs conditions de vie et leurs abondances jusqu'alors largement sous-estimées. De plus, l'amélioration sensible des méthodes séparatives a permis de décrire, *in situ*, la composition biochimique des communautés et d'aborder les transferts de matière sous un angle qualitatif.

L'ensemble des résultats disponibles laisse apparaître que les relations trophiques entre les microorganismes forment un véritable réseau à l'intérieur duquel la boucle microbienne permet le transfert, au moins en partie, de la production picoplanctonique vers les niveaux trophiques supérieurs. Ainsi, des progrès conséquents ont été réalisés quant à la compréhension du rôle des communautés bactériennes dans les flux de matière, y compris au niveau d'environnements particuliers (biofilms, milieux extrêmes). Par ailleurs, alors qu'il a été longtemps admis que la régulation des communautés bactériennes était essentiellement liée à la disponibilité ou à la qualité des substrats organiques, il apparaît maintenant que la limitation par les éléments nutritifs minéraux, la prédation des protistes phagotrophes et du métazooplancton et la lyse virale sont également des facteurs susceptibles d'intervenir significativement dans ce contrôle.

Malgré ces progrès considérables dans le domaine de l'écologie microbienne, près de 90 % des microorganismes présents dans l'environnement n'ont pas encore été décrits et la compréhension des relations entre les microorganismes et le fonctionnement des écosystèmes reste un enjeu majeur pour les années à venir.

Mots clés : milieux aquatiques, écologie microbienne, virus, bactéries, protozoaires, boucle microbienne.

1 – INTRODUCTION

L'omniprésence et le rôle-clé des microorganismes dans le fonctionnement des systèmes écologiques, notamment aquatiques, font de l'écologie microbienne une discipline essentielle.

L'impact des microorganismes sur l'environnement, la santé, l'économie est considérable. En particulier, leurs rôles dans les cycles biogéochimiques, qui soutiennent le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, est prépondérant. Par ailleurs, l'émergence de problèmes tels que la pollution de l'air et de l'eau, la famine, les maladies et l'explosion démographique, a permis de réaliser que les microbes ne sont pas que de simples modèles cellulaires.

Apparus très tôt au cours de l'évolution, les microorganismes ont pu se diversifier alors que l'écologie de la planète a été exclusivement microbienne pendant plusieurs milliards d'années. L'importance des microbes est intimement liée à leurs caractéristiques spécifiques et, notamment, à leur petite taille facilitant les échanges avec le milieu extérieur et assurant un taux de croissance très élevé, et à la complexité et la diversité de leur métabolisme (PELMONT, 1993). De plus, des échanges de gènes rapides et efficaces procurent aux microorganismes une forte capacité potentielle de dispersion et de colonisation et leur permettent de s'adapter rapidement aux variations environnementales (PEDRÓS-ALIÓ et GUERRERO, 1994).

En milieu aquatique pélagique, les travaux réalisés dans le domaine de l'écologie microbienne, au cours des deux dernières décennies, ont permis de montrer que les flux de matière et d'énergie ne s'organisent pas seulement selon la voie trophique linéaire classique basée sur l'assimilation photosynthétique (phytoplancton → zooplancton → poissons), mais empruntent également la voie de la boucle microbienne (POMEROY, 1974 ; AZAM *et al.*, 1983) pour former un véritable réseau trophique (*fig. 1*).

L'objet du présent article est de fournir un aperçu du progrès des connaissances concernant les microorganismes hétérotrophes ou mixotrophes (bactéries, protistes) qui jouent un rôle essentiel dans les réseaux trophiques microbiens.

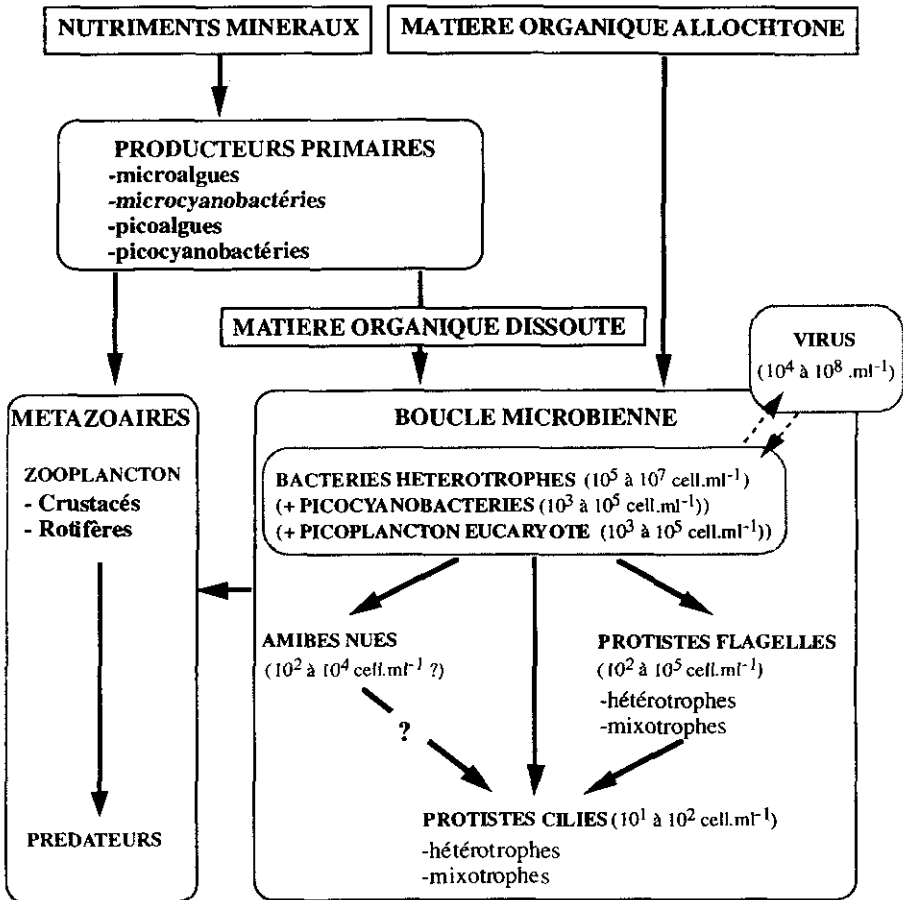


Figure 1 Schématisation des réseaux trophiques en milieu aquatique pélagique et variations de l'abondance des différentes communautés de la boucle microbienne selon le niveau trophique des milieux.

Conceptual model of the trophic interactions in pelagic aquatic systems. The members indicate the abundances of the different communities of the microbial loop, according to the trophic state.

2 – ÉVOLUTION DES MÉTHODES

2.1 Identification, dénombrement et caractérisation biochimique des microorganismes

L'écologie microbienne a connu une avancée considérable grâce à l'évolution des techniques de dénombrement direct, notamment en microscopie à épifluorescence, et au développement des méthodes immunologiques liées à l'utilisation des anticorps monoclonaux.

L'utilisation de la microscopie à épifluorescence (PORTER et FEIG, 1980) a révélé des densités bactériennes variant de 10^5 à 10^7 cellules·mL⁻¹ selon le niveau trophique du milieu (COLE *et al.*, 1988) (fig. 1). Ces valeurs sont largement supérieures aux abondances mesurées auparavant par culture des bactéries sur des milieux gélosés et après incubation à des températures élevées.

La séparation, en microscopie à épifluorescence, entre l'autofluorescence naturelle et la fluorescence induite par des fluorochromes spécifiques des protéines ou des acides nucléiques a également permis de mettre en évidence la présence d'une abondante communauté de protistes flagellés hétérotrophes (10^2 - 10^5 cellules·mL⁻¹), principaux prédateurs des bactéries (CARON, 1983). De la même façon, l'utilisation de fixateurs adéquats (SIME-NGANDO *et al.*, 1990) a rendu possible le dénombrement des ciliés planctoniques (< 1-50 cellules·mL⁻¹) en microscopie inversée. Par ailleurs, l'utilisation de traceurs fluorescents naturels ou artificiels, permet de quantifier directement, par observation microscopique des vacuoles digestives ou du tractus digestif de certains métazoaires, les flux de matière dans les réseaux trophiques microbiens aquatiques (SHERR et SHERR, 1993).

Couplée à l'utilisation des fluorochromes, la cytométrie en flux permet, non seulement de mesurer l'abondance et la taille des microorganismes planctoniques les plus petits (COURTIES *et al.*, 1994), mais également d'accéder aux caractéristiques biologiques, cellule par cellule, concernant la concentration d'un constituant cellulaire (ADN, protéines, antigènes membranaires), ou des fonctions cellulaires révélées par un test physiologique de viabilité (activité enzymatique, potentiel membranaire, pH intra-cellulaire) (FOUCHET *et al.*, 1993).

L'application des techniques de biologie moléculaire au domaine de l'écologie aquatique, et notamment l'utilisation de marqueurs moléculaires tels que les sous-unités d'ARN ribosomal ou des sondes oligonucléotidiques a rendu possible l'identification précise des microorganismes aquatiques. Ces techniques de biologie moléculaire, largement utilisées pour les bactéries (STAHL et AMANN, 1991), ont été récemment appliquées avec succès au protozooplancton (LIM, 1996 ; LIM *et al.*, 1996) même si elles restent d'utilisation assez délicate lors d'études en milieu naturel. De plus, la diversité et l'omniprésence des microorganismes révélées par la mise en œuvre de l'ensemble de ces techniques est en adéquation avec la structure fractale de l'environnement et la relation allométrique inverse qui existe entre, d'une part, la diversité spécifique et l'abondance, et, d'autre part, la taille des organismes (PEDRÓS-ALIÓ et GUERRERO, 1994).

Si les méthodes récentes d'observation microscopique auxquelles nous venons de faire référence ont incontestablement amélioré l'estimation de la biomasse microbienne, en revanche elles n'ont pas permis d'accéder à la signification fonctionnelle de la biodiversité pour laquelle les techniques de microbiologie « classique », en faisant appel à l'utilisation de milieux de culture à caractère sélectif plus ou moins marqué, ne rendent pas compte.

Depuis une quinzaine d'années, avec l'extraordinaire avancée technologique des méthodes séparatives, notamment chromatographiques, une démarche biochimique, basée sur le suivi de marqueurs organiques naturels, s'est développée, tant à l'initiative des océanographes que des limnologues (SCRIBE et BOURDIER, 1995). Le fondement de cette approche repose sur le fait qu'il semble possible de décrire *in situ* une communauté plurispécifique à partir de sa composition biochimique. Parmi les composés organiques présentant une spécificité taxonomique,

les acides gras des lipides polaires constitutifs des membranes des Eubactéries sont le plus souvent mentionnés. Ainsi, dans le domaine de l'analyse des sédiments, la présence de grands groupes fonctionnels a pu être mise en évidence (FREDERICKSON *et al.*, 1987 ; BALHWILL *et al.*, 1988).

Les chlorophylles et les caroténoïdes forment également des associations pigmentaires dont l'intérêt chémotaxonomique est depuis longtemps reconnu. La possibilité d'utiliser ce type de biomarqueur dans les études de transfert de matière organique au sein des écosystèmes aquatiques a été envisagée. Dans les études de sédimentation, la prise en compte des profils pigmentaires verticaux, alliée à des datations isotopiques, permet de retracer l'histoire du milieu étudié en révélant la succession des microorganismes phototrophes et leur diversité (STEENBERGEN et KORTHALS, 1988). Plus précisément, l'accumulation de pigments caractéristiques de cyanobactéries signe souvent l'eutrophisation du bassin considéré (QUIBLIER *et al.*, 1994). Par ailleurs, si des résultats très significatifs ont été obtenus, grâce aux biomarqueurs, dans l'étude du transfert de la biomasse algale dans les chaînes trophiques, le suivi des marqueurs bactériens dans ce domaine n'a encore pas révélé tous ses intérêts. Ainsi, la prise en compte des acides gras de différentes origines (bactéries, protozoaires, microalgues) dans les lipides de réserve du zooplancton métazoaire pélagique semble cependant être une voie nouvelle pour aborder les transferts de matière au sein des réseaux trophiques microbiens (DESVILLETES *et al.*, 1997).

1.2 Mesures de l'activité métabolique des communautés microbiennes

Les techniques de mesure de l'activité métabolique des communautés microbiennes se sont beaucoup diversifiées au cours de ces dernières années (KEMP *et al.*, 1993). L'activité des microorganismes sur les composés macromoléculaires peut être mise en évidence à travers la mesure de différents types de productions exoenzymatiques : exoprotéolytique (L-leucyl- β -naphthylamide : LL β N), hydrolasique (diacétate de fluorescéine : FDA), et de diverses autres activités spécifiques (chitinasique, galactosidasique, glucosidasique, glucuronidasique, lipasique, phosphatasique, sulfatasique...) en association avec un fluorochrome, le 4-méthylumbelliferyl (MUF). L'activité de la chaîne respiratoire des bactéries peut également être révélée à l'aide de sels de tétrazolium (INT ou CTC). Cette technique donne accès, soit à des dénombrements au microscope à épifluorescence des bactéries métaboliquement actives, soit à l'évaluation, après extraction et dosage du formazan, de la respiration elle-même.

Concernant la mesure de la production bactérienne, les méthodes utilisant des précurseurs marqués (^3H -Thymidine, ^3H -Leucine) restent encore les techniques les plus couramment utilisées. Une adaptation de ces méthodes, le « pulse labelling » (LAROCC *et al.*, 1988), qui fait intervenir des temps d'incubation très courts, conduit à une mesure plus précise du métabolisme bactérien. D'autres techniques ont été proposées pour évaluer la production bactérienne : mesures du taux de renouvellement d'acides aminés (SIMON et AZAM, 1989), extraction de biomarqueurs lipidiques (WHITE, 1988), hybridation d'ARN ribosomal par des sondes oligonucléotidiques associées à un dénombrement au DAPI (KEMP *et al.*, 1993). Les techniques permettant de déterminer les rendements de croissance du bactérioplancton *in situ* (production bactérienne/activité organotrophe) sont, jusqu'à présent, peu satisfaisantes. Elles ont cependant mis en évidence une forte variabilité de ces rendements (0,4 % à 74 %) (GAYTE, 1997). L'utilisation

d'un rendement moyen de croissance bactérienne apparaît donc comme une démarche très simplificatrice dans la construction des budgets trophiques des écosystèmes aquatiques. Le couplage entre le cytomètre en flux et des indicateurs d'activités spécifiques pourrait, dans le futur, être une des techniques permettant de déterminer des rendements de croissance à l'intérieur de groupes fonctionnels bactériens.

3 – ÉVOLUTION DES CONCEPTS ET PROGRÈS DES CONNAISSANCES

Au cours des dix dernières années, des progrès conséquents ont été réalisés quant à la compréhension des facteurs de variations et de contrôle des communautés bactériennes, et plus généralement, de la boucle microbienne.

3.1 Les microorganismes et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques

3.1.1 Rôles des bactéries hétérotrophes dans les flux de matière

Les bactéries hétérotrophes participent aux transferts de matière et d'énergie dans les écosystèmes aquatiques par leurs activités de minéralisation et de production de biomasse. L'utilisation par les bactéries de la matière organique particulaire et des composés macromoléculaires dissous nécessite une hydrolyse exoenzymatique dont les produits pénètrent à l'intérieur des cellules bactériennes grâce à des perméases. Ces réactions constituent souvent des étapes limitantes à l'utilisation de la matière organique dans les milieux naturels (BILLEN, 1991). Dans les lacs et les réservoirs, d'importantes activités bactériennes ont été mises en évidence sur du matériel particulaire en sédimentation (SMITH *et al.*, 1992). Ces études ont montré que la séparation de la matière organique entre fraction particulaire et fraction dissoute était très artificielle. Entre ces deux fractions, il existerait, en réalité, un continuum constitué principalement de particules organiques non vivantes (Transparent Exopolymer Particles : TEP, Dapi Yellow Particles : DYP, Comassie Staining Particles : CSP) dont le rôle dans la nutrition bactérienne pourrait être important (ALLDREDGE *et al.*, 1993 ; LONG et AZAM 1996).

Les bactéries utilisent rapidement le carbone organique dissous de faible poids moléculaire (KIRCHMAN *et al.*, 1991). Une attention particulière a donc été portée au cours des dernières années à la composante qualitative de cette fraction dissoute, soit par des techniques de chimie analytique, soit par des bioessais. Ils mettent en évidence une grande variabilité spatiale et temporelle et ont permis de comprendre, en partie, l'accumulation de carbone organique dissous biodégradable observée dans certains milieux aquatiques (THINGSTAD *et al.*, 1997). Les hypothèses formulées à ce sujet sont les suivantes : 1) très grande diversité des molécules organiques naturelles par rapport à celle des pools enzymatiques bactériens (AZAM *et al.*, 1994), 2) contraintes chimiques ralentissant la dégradation (AZAM *et al.*, 1994), et 3) accroissement du caractère réfractaire des molécules organiques avant même leur utilisation par les bactéries (KEIL et KIRCHMAN, 1993).

La communauté bactérienne dans les milieux aquatiques naturels est de moins en moins considérée comme une entité homogène mais plutôt comme un ensem-

ble de groupes fonctionnels (bactéries chimio-litho-autotrophes, chimio-organo-hétérotrophes...) et/ou taxonomiques. Un groupe fonctionnel est un ensemble de bactéries utilisant les mêmes sources d'énergie, d'électrons et de carbone, ainsi que les mêmes accepteurs d'électrons, indépendamment de leur taxonomie. PEDRÓS-ALIÓ (1989) propose même de subdiviser le groupe des chimio-organo-hétérotrophes en différents sous-groupes selon la nature de la matière organique métabolisée. Cette approche fonctionnelle permet de reconsidérer, sous un jour nouveau, le rôle du bactérioplancton dans les principaux cycles biogéochimiques.

Depuis l'apparition des premières listes taxonomiques de bactéries dans les océans (GIOVANNONI *et al.*, 1990), des inventaires ont été effectués dans divers milieux aquatiques. Ces travaux ont mis en évidence l'écart phylogénétique important qui sépare deux groupes bactériens, les Archea (ex Archeobacteria) et les Bacteria (ex Eubacteria), écart supérieur à celui qui existe entre le règne animal et le règne végétal. Les Archea ont été trouvées en grande abondance dans de nombreux milieux aquatiques et, plus spécialement, dans les zones profondes des océans sans dominance particulière de certains phyla.

Les techniques de biologie moléculaire permettent maintenant d'avoir accès à la diversité fonctionnelle bactérienne dans les milieux aquatiques. DELONG *et al.* (1993) ont montré d'importants écarts taxonomiques entre les bactéries libres et les bactéries fixées des milieux marins, communautés pour lesquelles PEDRÓS-ALIÓ (1989) avait déjà mis en évidence des différences fonctionnelles. À l'avenir, cette comparaison entre groupes fonctionnels et groupes taxonomiques devrait permettre de déterminer dans quelle mesure les modèles de fonctionnement des communautés phyto- et zooplanctoniques (compétition, succession) peuvent s'appliquer au bactérioplancton (KARL, 1994).

Il est à noter que dans les milieux lotiques, une forte proportion de la matière organique particulière est dégradée par les champignons microscopiques (GESSNER et CHAUVET, 1994). Le rôle de ces microorganismes dans les milieux lenti-ques profonds reste encore très mal connu.

3.1.2 Fonctionnement de la boucle microbienne au niveau de sites particuliers

- *Les microorganismes associés aux substrats*

Les substrats minéraux et organiques immergés sont recouverts d'un biofilm constitué de microorganismes autotrophes et hétérotrophes (bactéries, protozoaires, microalgues, champignons microscopiques,...) noyés dans une matrice complexe de produits extracellulaires et de particules détritiques (LOCK, 1993). Le développement récent de méthodes adaptées à l'observation de cet environnement particulier, a permis d'améliorer les connaissances sur la structure et le fonctionnement des biofilms en milieux aquatiques.

La structure physique (densité, porosité), chimique (gradients ioniques) et biologique (distribution spatiale des assemblages cellulaires) des biofilms des milieux naturels est assez peu connue par rapport à celle des biofilms des systèmes artificiels ou expérimentaux (ZHANG et BISHOP, 1994). Les facteurs et les mécanismes impliqués dans la dynamique de colonisation et de développement des communautés sur des supports naturels ou artificiels ont été mieux appréhendés (McCORMICK et STEVENSON, 1991). Cependant, la complexité des processus en milieu naturel rend difficile leur modélisation et peu de résultats ont été publiés dans ce domaine (UEHLINGER *et al.*, 1996).

La bibliographie concernant l'influence des facteurs environnementaux sur la composition, le fonctionnement et la distribution des biofilms est abondante. Les facteurs abiotiques les mieux étudiés demeurent la vitesse du courant (BIGGS et STOKSETH, 1996), l'éclairement (DeNICOLA et HOAGLAND, 1996), les nutriments (McCORMICK *et al.*, 1996), et les caractéristiques physico-chimiques du milieu aquatique lui-même et de son bassin versant (BIGGS, 1995). Les effets exercés par ces différents paramètres ont été observés à différentes échelles spatiales et temporelles (CAZAUBON *et al.*, 1995). L'importance des organismes brouteurs (protozoaires, invertébrés benthiques, poissons) sur le contrôle des peuplements microbiens des biofilms a fait l'objet de nombreuses études (FEMINELLA et HAWKINGS, 1995).

À l'avenir, les progrès dans la compréhension du rôle des biofilms dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques seront largement dépendants de la prise en compte, d'une part, d'un éventail suffisant de descripteurs de ces biofilms, et, d'autre part, des facteurs écologiques mesurés à différentes échelles spatiales (du μm au km) et de leurs interactions (MULHOLLAND *et al.*, 1995).

- *Les microorganismes dans les milieux extrêmes*

Au cours des deux dernières décennies, la découverte de microorganismes vivant au niveau du fond des mers et à très grande profondeur à l'intérieur de la terre, a révélé que la biosphère n'est pas limitée à la surface du globe. Ainsi, des bactéries hyperthermophiles (70 à 110 °C) et anaérobies ont été mises en évidence autour des sources hydrothermales dans les grands fonds marins, à des profondeurs où règnent des pressions de l'ordre de 250 bars (PRIEUR *et al.*, 1995). De la même façon, des bactéries hyperthermophiles et anaérobies ont été observées au niveau de forages pétroliers, à 2 000 mètres de profondeur, cependant des expériences complémentaires sont encore nécessaires pour écarter l'hypothèse d'une contamination superficielle.

Dans les milieux hypersalés, la pression de prédation sur les bactéries est fortement réduite dans la mesure où la plupart des prédateurs ne peuvent tolérer des salinités importantes. En conséquence, l'abondance des bactéries est, dans ces milieux, supérieure à celle des systèmes aquatiques de niveau trophique équivalent (PEDRÓS-ALIÓ, 1989).

Dans les eaux souterraines, la lenteur des biosynthèses autotrophes basées sur la chimiolithotrophie, en absence de photolithotrophie, confère à ces milieux une productivité très faible (GOUNOT, 1994). Dans ces conditions aérobies ou anaérobies, les bactéries autochtones utilisent de manière optimale les faibles ressources énergétiques.

Enfin, dans les régions polaires, le développement bactérien étant limité par la température, la capacité de certains protozoaires flagellés d'incorporer directement la matière organique dissoute de haut poids moléculaire augmente significativement afin de compenser la faiblesse de la ressource bactérienne (SIME-NGANDO et YAGER, 1994).

3.2 Contrôle des communautés bactériennes en milieu aquatique

Les principaux facteurs susceptibles de réguler l'abondance et la production bactériennes des milieux aquatiques sont la température, les ressources, la prédation et la lyse virale (RIVKIN et ANDERSON, 1997). Il existe d'autres processus de pertes comme la sédimentation (PEDRÓS-ALIÓ et BROCK, 1983), l'autolyse

(SERVAIS *et al.*, 1985), la mortalité par interactions allélopathiques, mais ceux-ci sont généralement considérés comme mineurs (WEISSE, 1991).

Alors qu'il a été longtemps admis que la régulation des communautés bactériennes était essentiellement liée à la disponibilité ou à la qualité des substrats organiques, les travaux réalisés au cours des deux dernières décennies tendent à montrer que la limitation par les éléments nutritifs minéraux, la prédation des protistes phagotrophes et du métazooplancton et la lyse virale sont également des facteurs susceptibles d'intervenir significativement dans ce contrôle.

En fait, comme le soulignent NAGATA et KIRCHMAN (1992), les différents mécanismes de régulation décrits ci-dessous opèrent à différentes échelles spatiales et temporelles.

- *Limitation par les ressources*

Il est difficile d'identifier le ou les facteurs limitants du développement bactérien dans la mesure où ceux-ci, covarient très souvent. Tel est le cas, par exemple, du carbone organique dissous (COD) biodégradable et des éléments nutritifs minéraux.

Cependant, l'existence d'une forte corrélation positive entre la production primaire et la production bactérienne dans la plupart des zones pélagiques marines et d'eau douce (COLE *et al.*, 1988) suggère que les substrats organiques dissous, issus notamment, de l'excrétion phytoplanctonique, régulent le développement de la communauté bactérienne. Cette limitation par la disponibilité en COD biodégradable a également été mise en évidence par des expériences d'enrichissement (CARLSON et DUCKLOW, 1996). Cependant, RIVKIN et ANDERSON (1997) font remarquer, à la suite de nombreux auteurs, qu'une corrélation n'est pas une preuve d'une relation causale, le développement des bactéries hétérotrophes et du phytoplancton pouvant, par exemple, être contraint par la disponibilité d'une même ressource. De plus, la dynamique bactérienne peut, dans certains cas, être totalement découplée de la production phytoplanctonique (COVENEY et WETZEL, 1995). Enfin, l'accumulation de COD biodégradable dans la zone euphotique des océans oligotrophes (THINGSTAD et RASSOULZADEGAN, 1995) implique l'intervention de facteurs limitants autres que la disponibilité en substrats organiques. Ainsi, plusieurs études comparatives réalisées en milieu naturel et en conditions expérimentales (PACE et COLE, 1996) ont montré que le phosphore minéral (PO_4^{3-}) peut être un facteur limitant important de la croissance bactérienne dans les systèmes lacustres. Dans ces milieux, la régulation par le phosphore minéral n'est pas surprenante si l'on considère les quantités relativement importantes de carbone organique allochtone et autochtone disponibles et le rôle prépondérant de cet élément nutritif dans la régulation de la production primaire (WETZEL, 1983).

En milieu marin, ce n'est que très récemment que des études ont montré, qu'à certaines saisons et dans certaines zones, PO_4^{3-} , et quelquefois NH_4^+ , limitent le développement bactérien (CHIM-LEO et BENNER, 1992 ; POMEROY *et al.*, 1995) et expliquent, au moins en partie, l'accumulation de COD biodégradable en zone euphotique oligotrophe (THINGSTAD et RASSOULZADEGAN, 1995).

- *Limitation par la prédation*

C'est à partir de l'observation d'un rapport bactéries/protozoaires flagellés relativement constant (1000/1), en zones pélagiques marines et d'eau douce, que

SANDERS *et al.* (1992) ont, suggéré l'existence d'une régulation de l'abondance bactérienne par les flagelles hétérotrophes, notamment dans les systèmes eutrophes. De nombreux travaux réalisés en conditions expérimentales, ont, par ailleurs, montré que les protozoaires flagellés peuvent se développer à partir de cultures bactériennes en consommant de 10 à 250 bactéries par protozoaire et par heure (FENCHEL, 1982 ; SHERR et SHERR, 1984). Grâce à l'utilisation de bactéries marquées à l'aide de fluorochromes (SHERR et SHERR, 1987) et de particules fluorescentes (McMANUS et FUHRMAN, 1988), la consommation de bactéries et de particules de taille identique a pu être confirmée. Compte tenu de l'abondance des flagellés hétérotrophes (10^2 à 10^5 .mL selon le niveau trophique), ces derniers sont donc potentiellement capables de réguler l'abondance bactérienne.

C'est grâce à des caractéristiques physiologiques et comportementales très particulières que les protozoaires flagellés sont capables d'avoir, par leur prédation, un impact significatif sur les communautés bactériennes. En effet, ces microorganismes, ubiquistes et très abondants, présentent des taux de croissance presque aussi élevés que ceux des bactéries. De plus, ces protozoaires sont dotés d'une grande mobilité et de capacités chemosensorielles importantes (SHERR *et al.*, 1988).

Si les protozoaires flagellés hétérotrophes sont généralement considérés comme les prédateurs majeurs des bactéries dans les écosystèmes aquatiques (GÜDE, 1988), les protozoaires flagellés mixotrophes (ESTEP *et al.*, 1986 ; PORTER, 1988 ; SANDERS, 1991) et les protozoaires ciliés (SHERR et SHERR, 1987 ; STOCKNER et PORTER, 1988 ; CARRIAS *et al.*, 1996) peuvent intervenir de façon significative dans la prédation du bactérioplancton. En eau douce, le zooplancton métrazoaire et, plus spécialement, les Cladocères (*Ceriodaphnia* et *Daphnia*) (JURGENS, 1994) et les Rotifères (ARNDT, 1993 ; OOMS-WILMS, 1997) peuvent, dans certains milieux et à certaines époques de l'année, présenter un impact de prédation important sur les communautés bactériennes (RIEMAN, 1985).

Ce processus de prédation doit être replacé dans le contexte plus large des interactions proies-prédateurs qui contribuent à expliquer la relative stabilité de l'abondance bactérienne dans de nombreux milieux aquatiques alors que l'activité des bactéries peut être très variable. En effet, la prédation permettrait d'éviter l'accumulation des cellules sénescents, de maintenir l'abondance bactérienne à un niveau n'entraînant pas de limitation par les ressources et d'accroître la disponibilité en éléments nutritifs minéraux et en COD par des processus de recyclage et d'excrétion (PORTER *et al.*, 1985). Globalement, l'activité de broutage se traduit par une baisse du volume cellulaire bactérien moyen et par une hausse du taux de croissance spécifique (SHERR *et al.*, 1992).

Ainsi, plusieurs auteurs (JOST *et al.*, 1992 ; PACE et COLE, 1996 ; THINGSTAD *et al.*, 1997) considèrent que si la production bactérienne est effectivement souvent limitée par les ressources, la prédation est un élément important de la régulation de l'abondance bactérienne.

Enfin, le rôle des protistes bactérivores (flagellés hétérotrophes et mixotrophes, ciliés) est à resituer dans le contexte de la boucle microbienne où ils peuvent transférer une grande partie de la production picoplanctonique (bactéries hétérotrophes, picocyanobactéries, picoplancton autotrophe eucaryote) vers les niveaux trophiques supérieurs. Cependant, si la boucle microbienne augmente, ainsi, généralement, la productivité des systèmes aquatiques pélagiques, l'importance quantitative et fonctionnelle de ce réseau trophique microbien varie grande-

ment selon le niveau trophique des milieux, les saisons, la profondeur et la structure des peuplements (AMBLARD *et al.*, 1995).

- *Limitation par la lyse virale*

La diversité et l'importance quantitative élevées des virus dans les écosystèmes aquatiques stimulent les efforts des planctonologistes, en vue de comprendre le rôle du viroplancton dans la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques aquatiques et, notamment, dans les processus de pertes affectant les communautés microbiennes (BØRSHEIM, 1993 ; FUHRMAN et SUTTLE, 1993 ; SIMEN-GANDO, 1997). Il ressort de ces études récentes que la diversité des virus est plus grande que les seules formes de type phage reconnaissables en microscopie électronique et encore nettement plus élevée sur le plan génétique. Le principal facteur biotique limitant la diversité et l'abondance des virus semble être l'abondance des hôtes sensibles. La présence de prolongements ou d'épines, polymorphisme uniquement observé chez les virus aquatiques, accroît la probabilité de rencontre d'un hôte, notamment en milieu oligotrophe. Ainsi, il est fortement probable que toutes les communautés aquatiques, procaryotes ou eucaryotes, sont sujettes aux infections par les virus de leur environnement.

D'un point de vue quantitatif, les virus, dont la densité fluctue généralement entre 10^4 et 10^8 mL⁻¹, forment une composante très dynamique des écosystèmes aquatiques où ils sont essentiellement représentés par des particules virales de production récente. Leur dynamique saisonnière dépend de facteurs abiotiques (température, rayonnements UV, agents chimiques...) et biotiques (hôtes sensibles, charge organique...). Sur un plan fonctionnel, SUTTLE (1994) estime que les virus sont, en milieu marin, la cause de plus de 30 % de la mortalité du bactérioplancton et de près de 10 % de la mortalité du phytoplancton. Cependant, leur importance fonctionnelle serait beaucoup plus forte dans des processus aléatoires, notamment dans la promotion des échanges génétiques, principal facteur du maintien de la biodiversité au sein des communautés microbiennes. Cette boucle, bactéries → bactériophages → MOD → bactéries, intervient dans les processus de recyclage de la matière organique en milieu aquatique, tout en réduisant la contribution bactérienne aux flux de matière et d'énergie vers les maillons trophiques supérieurs. Enfin, il a été montré que certains protozoaires planctoniques peuvent ingérer et digérer des virus (GONZALEZ et SUTTLE, 1993), mais cette consommation semble être de moindre importance dans les flux de matière qui traversent les réseaux trophiques microbiens. Par ailleurs, les virus sont de véritables noyaux d'induction d'agrégats planctoniques pouvant être exportés par divers mécanismes physiques et/ou par des processus biologiques. Enfin, il faut souligner le caractère préliminaire et ponctuel des données de la littérature sur l'écologie des virus aquatiques, celles-ci provenant, pour la plupart, d'études menées en zones tempérées et étant limitées à une période de l'année.

4 – CONCLUSIONS

Les études récentes, réalisées dans le domaine de l'écologie microbienne, ont mis en évidence l'omniprésence des microorganismes et leur rôle prépondérant dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. La découverte de

microorganismes dans des milieux considérés jusqu'alors comme abiotiques (grands fonds marins,...) a considérablement étendu la biosphère.

Plus généralement, le développement récent de l'écologie microbienne nous permet, maintenant, d'entrevoir l'extraordinaire diversité des microorganismes aquatiques, l'étendue de leurs conditions de vie (température, oxygène, pression...) et leurs abondances jusqu'alors insoupçonnées. Malgré les progrès considérables réalisés au niveau des méthodes, la tâche à accomplir reste immense. Près de 90 % des microorganismes présents dans l'environnement n'ont pas encore été décrits. La banalisation des techniques de séquençage et l'utilisation conjointe d'approches bio-informatiques d'analyse des génomes et d'approches cellulaires devraient, cependant, donner accès à la phylogénie et à la diversité fonctionnelle des microorganismes.

Les relations entre les microorganismes et le fonctionnement des écosystèmes, et, notamment, la compréhension des mécanismes responsables de leur adaptation aux conditions fluctuantes de l'environnement, constituent un enjeu majeur pour les années à venir. Dans cette optique, il sera nécessaire de relier l'échelle micrométrique – celle, par exemple, de la microzonation des bactéries autour d'un autre microorganisme – et l'échelle kilométrique d'observation des communautés microbiennes, échelle pertinente pour l'étude, par exemple, de la réponse du bactérioplancton à un développement phytoplanctonique important. Par ailleurs, des travaux expérimentaux en microcosmes, associant des communautés bactériennes et des organismes supérieurs, tels que les invertébrés, constituent également une perspective intéressante pour l'étude des relations entre les microorganismes et le fonctionnement des écosystèmes (MONTUELLE *et al.*, 1997).

L'ensemble des recherches dans le domaine de la microbiologie des systèmes aquatiques a également mis en lumière la complexité des réseaux trophiques microbiens à l'intérieur desquels la boucle microbienne assure le transfert, au moins en partie, de la production picoplanctonique vers les niveaux trophiques supérieurs. La modélisation mathématique de l'ensemble de ces relations trophiques (DUCKLOW, 1994 ; BLACKBURN *et al.*, 1997) devrait, à l'avenir, fournir un cadre plus formalisé pour l'étude du rôle des microorganismes dans le fonctionnement global des systèmes aquatiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLDREDGE A.L., PASSOW U., LOGAN B.E., 1993. The abundance and significance of a class of large, transparent organic matter in the ocean. *Deep-Sea res.*, 40, 1131-1140.
- AMBLARD C., CARRIAS J.-F., BOURDIER G., MAURIN N., 1995. The microbial loop in a humic lake: seasonal and vertical variations in the structure of the different communities. *Hydrobiol.*, 300/301, 71-84.
- ARNDT H., 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) – a review. *Hydrobiologia*, 255/256, 231-246.
- AZAM F., SMITH D.C., STEWAR, G.F., HAGSTRÖM A., 1994. Bacteria organic matter coupling and its significance for oceanic cycling carbon. *Microb. Ecol.* 28(2), 167-179.

- AZAM F., FENCHEL T., FIELD J.G., GRAY J.S., MEYER-REIL L.A., THINGSTAD F., 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10, 257-263.
- BALKWILL D.L., LEACH F.R., WILSON J.T., MCNABB J.F., WHITE D.C., 1988. Equivalence of microbial biomass measures based on membrane lipid and cell wall components, adenosine triphosphate and direct counts in subsurface aquifer sediments. *Microb. Ecol.*, 16, 73-84.
- BIGGS B.J.F., STOCKSETH S., 1996. Hydraulic habitat suitability for periphyton in rivers. *Regul. Rivers Res. Manage.*, 12, 251-261.
- BIGGS B.J.F., 1995. The contribution of flood disturbance, catchment geology and land use to the habitat template of periphyton in stream ecosystems. *Freshwat. Biol.*, 33, 419-438.
- BILLEN G., 1991. Protein degradation in aquatic environments. In: *Microbial enzymes in aquatic environments*, CHRÖST R. [Ed.], pp. 123-143.
- BLACKBURN N., AZAM F., HAGSTRÖM A., 1997. Spatially explicit simulations of a microbial food web. *Limnol. Oceanogr.*, 42, 613-622.
- BØRSHEIM K.Y., 1993. Native marine bacteriophages. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 102, 141-159.
- BROCK T. D., 1966. Principles of microbial ecology. Englewood Cliffs, Prentice Hall, 306 p.
- CARLSON C.A., DUCKLOW H.W., 1995. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* 10, 69-85.
- CARON D.A., 1983. Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nanoplankton, using epifluorescence microscopy, and comparison with other procedures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 491-498.
- CARRIAS J.F., AMBLARD C., BOURDIER G., 1996. Protistan bacterivory in an oligomesotrophic lake: importance of attached ciliates and flagellates. *Microb. Ecol.*, 31, 249-268.
- CAZAUBON A., ROLLAND T., LOUDIKI M., 1995. Heterogeneity of periphyton in French Mediterranean rivers. *Hydrobiologia*, 300/301, 105-114.
- CHIM-LEO G., BENNER R., 1992. Enhanced bacterioplankton production and respiration at intermediate salinities in the Mississippi River Plume. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 87, 87-103.
- COLE J.J., FINDLAY S., PACE M.L., 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 43, 1-10.
- COURTIES C., VAQUER A., TROUSSELIER M., LAUTIER J., CHRÉTIENNOT-DINET M.J., NEVEUX J., MACHADO C., CLAUSTRÉ H., 1994. Smallest eukaryotic organism. *Nature*, 370, 255.
- COVENEY M.F., WETZEL R.G., 1995. Biomass, production, and specific growth rate of bacterioplankton and coupling to phytoplankton in an oligotrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 40, 1187-1200.
- DELONG E.F., FRANKS D.G., ALLDREDGE, A.L., 1993. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs free-living marine bacterial assemblages. *Limnol. Oceanogr.*, 38, 924-934.
- DeNICOLA D.M., HOAGLANG, K.D., 1996. Effects of solar spectral irradiance (visible to UV) on a prairie stream epilithic community. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 15 (2), 155-169.
- DESVILLETES Ch., BOURDIER G., AMBLARD Ch., BARTH B., 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biol.*, 38, 101-109.
- DUCKLOW H.W., 1994. Modeling the microbial food web. *Microb. Ecol.* 28(2), 303-319.
- ESTEP K.M., DAVIS P.G., KELLER M.D., SIEBURTH M.C.N.J., 1986. How important are oceanic algal nanoflagellates in bacterivory? *Limnol. Oceanogr.*, 31, 646-650.
- FEMINELLA J.W., HAWKINS C.P., 1995. Interactions between stream herbivores and periphyton: a quantitative analysis of past experiments. *J. N. Amer. Benthol. Soc.*, 14(4), 465-509.
- FENCHEL T., 1982. Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as consumers of bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 9, 35-42.
- FOUCHET P., JAYAT C., HÉCHART Y., RATINAUD M.H., FRELAT G., 1993. Recent advances of flow cytometry in fundamen-

- tal and applied microbiology. *Bio. Cell.*, 78, 95-109.
- FREDRICKSON H.L., CAPPENBERG T.E., De LEEUW J.W., 1987. Polar lipid ester-linked fatty acid composition of Lake Vechten seston and ecological application of lipid analysis. *Microb. ecol.*, 38, 381-396.
- FUHRMAN J.A., SUTTLE C.A., 1993. Viruses in marine planktonic systems. *Oceanography*, 6, 51-63.
- GAYTE X., 1997. Rôle de l'interface rivière-lac dans la modification des apports de nutriments à l'écosystème lacustre. Dynamique du bactérioplancton et transformation de la matière organique dans l'écotone Leysse-Bourget. Th. Doct. Univ. Savoie, 160 p.
- GESSNER M.O., CHAUVET E., 1994. Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology*, 75, 1807-1817.
- GIOVANNONI S.J., BRITSCHGI T.B., MOYER C.L., FIELD K.G., 1990. Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature*, 345, 60-63.
- GONZALEZ J. M., SUTTLE C.A., 1993. Grazing by marine nanoflagellates on viruses and virus-sized particles: ingestion and digestion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 94, 1-10.
- GOUNOT A.M., 1994. Microbial ecology of groundwaters. In: *Groundwater ecology*, GIBERT J., DANIELOPOL D.L., STANFORD J.A. (Ed.), pp. 189-215.
- GÜDE H., 1988. Direct and indirect influences of crustacean zooplankton on bacterioplankton of Lake Constance. *Hydrobiol.*, 159, 63-73.
- JOST G., KLINKENBERG G., SPITTLER P., 1992. Bacteria between grazing pressure and organic carbon limitation. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 37, 233-240.
- JÜRGENS K., 1994. Impact of *Daphnia* on planktonic microbial food webs - A review. *Mar. Microb. Food Webs*, 8, 295-324.
- KARL D.M., 1994. Accurate estimation of microbial loop processes and rates. *Microb. Ecol.*, 28(2), 147-150.
- KEIL R.G., KIRCHMAN D.L., 1993. Dissolved combined amino acids: chemical forms and utilization by marine bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, 38, 1256-1270.
- KEMP P.F., SHERR B.F., SHERR E.B., COLE J.J., 1993. Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, 777 p.
- KIRCHMAN D.L., SUZUKI Y., GARSIDE C., DUCKLOW H., 1991. High turn over rates of dissolved organic carbon during a spring phytoplankton bloom. *Nature*, 352, 612-614.
- LAROCK P.A., SCHWARZ J.R., HOFER K.G., (1988). Pulse labelling: a method for measuring microbial growth rates in ocean. *J. Microbiol. Methods*, 8, 281-290.
- LIM E.L., 1996. Molecular identification of nanoplanktonic protists based on small subunit ribosomal RNA gene sequences for ecological studies. *J. Euk. Microbiol.*, 43, 101-106.
- LIM E.L., CAROB D.A., DELONG E.F., 1996. Development and field application of a quantitative method for examining natural assemblages of protists with oligonucleotide probes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 1416-1423.
- LOCK M.A., 1993. Attached microbial communities in rivers. In: *Aquatic Microbiology*, FORD T.E. [Ed.], 113-130.
- LONG R.A., AZAM F., 1996. Abundant protein containing particles in the sea. *Aquat. Microb. Ecol.*, 10, 223-230.
- MCCORMICK P.V., RAWLIK P.S., LURDING K., SMITH E.P., SKLAR F.H., 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutrient gradient in the northern Florida Everglades. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 15(4), 433-449.
- MCCORMICK P.V., STEVENSON R.J., 1991. Mechanisms of benthic algal succession in lotic environments. *Ecology*, 72(5), 1835-1848.
- McMANUS G.B., FUHRMAN J.A., 1986. Bacterivory in seawater studied with the use of inert fluorescent particles. *Limnol. Oceanogr.*, 9, 245-292.
- MONTUELLE B., LATOUR X., VOLAT B., LAFONT M., 1997. Use of a 6-steps microcosm for studying a wastewater discharge in a freshwater ecosystem: a multidisciplinary study. *Wat. Air Soil Pollut.*, 99, 661-669.
- MULHOLLAND P.J., MARZOLF E.R., HENDRICKS S.P., WILKERSON R.V., 1995. Longitudinal patterns of nutrient cycling

- and periphyton characteristics in streams: a test of upstream-downstream linkage. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **14**(3), 357-370.
- NAGATA T., KIRCHMAN D.L., 1992. Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa: implications for microbial food webs. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, **35**, 99-109.
- OOMS-WILMS A.L., 1997. Are bacteria an important food source for rotifers in eutrophic lakes? *J. of Plankton Research*, **19**(8), 1125-1141.
- PACE M.L., COLE J.J., 1996. Regulation of bacteria by resources and predation tested in whole-lake experiments. *Limnol. Oceanogr.*, **41**(7), 1448-1460.
- PEDRÓS-ALIÓ C., GUERRERO R., 1994. Prokaryotology for the limnologist. In: MARGALEF R. [ed.], *Limnology now: a paradigm of planetary problems*, p. 37-57.
- PEDRÓS-ALIÓ C., 1989. Toward an autoecology of bacterioplankton. In: *Plankton ecology: succession in plankton communities*, SOMMER U. [Ed.], pp. 297-336.
- PEDRÓS-ALIÓ C., BROCK T.D., 1983. The importance of attachment to particles for planktonic bacteria. *Arch. Hydrobiol.*, **98**, 354-379.
- PELMONT J., 1993. Bactéries et environnement- Adaptations physiologiques. Presses Universitaires de Grenoble, 899 p.
- POMEROY L.R., 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *BioScience*, **24**, 499-504.
- POMEROY L.R., SHELDON J.E., SHELDON Jr.W.M., PETERS F., 1995. Limits to growth and respiration of bacterioplankton in the Gulf of Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **117**, 259-268.
- PORTER K.G., 1988. Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs. *Hydrobiol.*, **159**, 89-97.
- PORTER K.G., SHERR E.B., SHERR B.F., PACE M., SANDERS R.W., 1985. Protozoa in planktonic food webs. *J. Protozool.*, **32**, 409-415.
- PORTER K.G., FEIG Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 943-948.
- PRIEUR D., ERAUSO G., JEANTHON C., 1995. Hyperthermophilic life at deep-sea hydrothermal vents. *Planetary and Space Sciences*, **43**, 115-122.
- QUIBLIER-LLOBERAS C., BOURDIER G., AMBLARD C., PEPIN D., 1996. A qualitative study of zooplankton grazing in an oligo-mesotrophic lake using phytoplanktonic pigments as organic markers. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 1767-1779.
- RIEMANN B., 1985. Potential importance of fish predation and zooplankton grazing on natural population of freshwater bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 187-193.
- RIVKIN R.B., ANDERSON R., 1997. Inorganic nutrient limitation of oceanic bacterioplankton; *Limnol. Oceanogr.*, **42**(4), 730-740.
- SANDERS R.W., 1991. Mixotrophic protists in marine and freshwater ecosystems. *J. Protozool.*, **38**, 76-81.
- SANDERS R.W., CARON D.A., BERNINGER U.G., 1992. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: An inter-ecosystem comparison. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **86**, 1-14.
- SCRIBE P., BOURDIER G., 1995. La matière organique lacustre: approche par les marqueurs moléculaires. In: R. POURRIOT, M. MEYBECK (eds), *Limnologie Générale*, Masson, Paris, 157-184.
- SERVAIS P., BILLEN G., VIVES REGLO J., 1985. Rate of bacterial mortality in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 1448-1454.
- SHERR B.F., SHERR E.B., 1984. Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flow in aquatic ecosystems. In: M.J. KLUG, C.A. REDDY (eds.), *Current perspectives in Microbial Ecology*, Amer. Soc. Microbiol., Washington, 412-423.
- SHERR B.F., SHERR E.B., HOPKINSON C.S., 1988. Trophic interactions within pelagic microbial communities: indications of feedback regulation of carbon flow. *Hydrobiol.*, **159**, 19-26.
- SHERR B.F., SHERR E.B., McDANIEL J., 1992. Effects of protistan grazing on the frequency of dividing cells in bacterioplankton assemblages. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2381-2385.
- SHERR E.B., SHERR B.F., 1993. Protistan grazing rates via uptake of fluorescently labeled prey, 695-701. In: *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. P.F.

- KEMP, B.F. SHERR, E.B. SHERR, J.J. COLE [eds.], Boca Raton, Lewis Publishers.
- SHERR E.B., SHERR B.F., 1987. High rates of consumption of bacteria by pelagic ciliates. *Nature*, 325, 710-711.
- SIME-NGANDO T., 1997. Importance des virus dans la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques microbiens aquatiques. *Ann. Biol.*, 36, 181-210.
- SIME-NGANDO T., HARTMANN H.J., GROLIÈRE C.A., 1990. Rapid quantification of planktonic ciliates: comparison of improved live counting with other methods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2234-2242.
- SIME-NGANDO T., YAGER P., 1994. Quantitative and functional importance of phagotrophic protozoa in the Northeast Water. *Ber. Z. Polarforsch.*, 142, 64-65.
- SIMON M., AZAM F., 1989. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 51, 201-213.
- SMITH D.C., SIMON M., ALLDREDGE A.L., AZAM F., 1992. Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. *Nature*, 359, 139-142.
- STAHL D.A., AMANN R., 1991. Development and application of nucleic acid probes. In: STACKEBRANDT E., GOODFELLOW M. [eds.], *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England, p. 205-248.
- STEENBERGEN C.L.M., KORTHALS H.J., 1988. Vertical distribution of pigments in stratified Lake Vechten (The Netherlands), determined by HPLC. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 31, 45-53.
- STOCKNER J.G., PORTER K.G., 1988. Microbial food webs in freshwater planktonic ecosystems. In: S.J. CARPENTER [ed], *Complex interactions in lake communities*. Springer-Verlag, New York, 69-83.
- SUTTLE C.A., 1994. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. *Microb. Ecol.*, 28, 237-243.
- THINGSTAD T., HAGSTRÖM F.A., RAS-SOULZADEGAN F., 1997. Accumulation of degradable DOC in surface waters: Is it caused by a malfunctioning microbial loop? *Limnol. Oceanogr.*, 42(2), 398-404.
- THINGSTAD T.F., RASSOULZADEGAN F., 1995. Nutrient limitations, microbial food webs, and "biological C-pumps": Suggested interactions in a P-limited Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 117, 299-306.
- UEHLINGER U., BÜRER H., REICHER, P., 1996. Periphyton dynamics in a flood-prone prealpine river: evaluation of significant processes by modelling. *Freswat. Biol.*, 36, 249.
- WEISSE T., 1991. The annual cycle of heterotrophic freshwater nanoflagellates: role of bottom-up versus top-down control. *J. Plankton Res.*, 13, 167-185.
- WETZEL R.G., 1983. *Limnology*, 2nd ed. Sanders.
- WHITE D.C., 1988. Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic state activity. *Adv. Limnol.*, 31, 1-18.
- ZHANG T.C., BISHOP P.L., 1994. Density, porosity, and pore structure of biofilms. *Wat. Res.*, 11, 2267-2277.