

Le petit peuple du grand large

Par Jean Blanchot**, Laure Guillou*, Frédéric Partensky*, Nathalie Simon* et Daniel Vaultot*

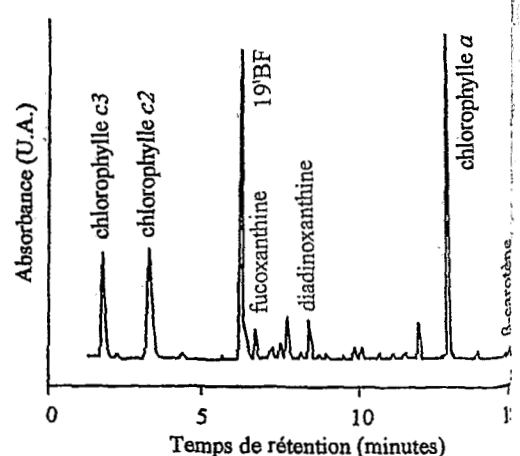
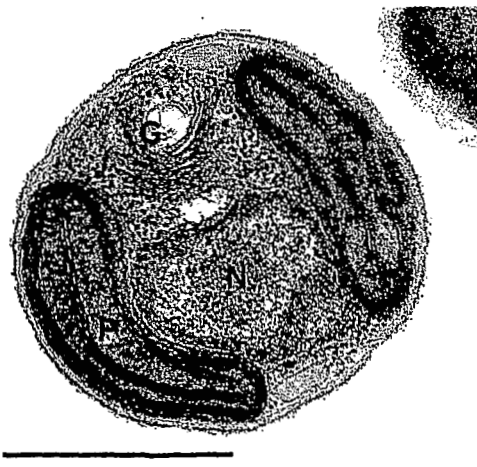
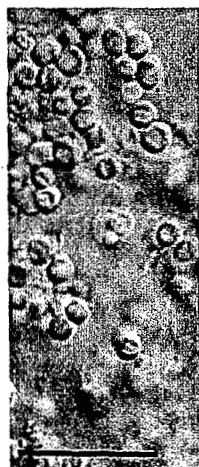
La quasi-totalité de la production de biomasse des océans provient de minuscules organismes photosynthétiques, d'un diamètre parfois inférieur au micron. Encore inconnu il y a vingt ans, le picophytoplancton étonne les chercheurs par la richesse de ses formes.

considérablement dès que l'on quitte les eaux du plateau continental. Cependant, un mystère demeurait : les mesures de la quantité totale de chlorophylle en haute mer donnaient des résultats incompatibles avec le faible nombre de microalgues observé dans ce milieu. Au cours des vingt dernières années, l'utilisation de techniques d'observation plus puissantes, comme la microscopie électronique, a levé un coin du voile... et bouleversé notre conception des écosystèmes hauturiers. En 1979, PW Johnson et JM Sieburth (Université de Rhode Island)

*Équipe Phytoplankton océanique, Station biologique de Roscoff, CNRS, Insu, et Université Pierre-et-Marie-Curie, BP 74, 29682 Roscoff cedex.
E-mail: lguillou@sb-roscoff.fr
** Unité de recherche Variabilité climatique tropicale, Orstom.

Les océanographes ont longtemps considéré les zones centrales des océans comme de vastes étendues désertiques. Pauvres en sels nutritifs, elles semblaient en effet incompatibles avec la prolifération du phytoplancton qui constitue la source de nourriture primaire de toute chaîne ali-

mentaire marine. L'observation d'échantillons marins au microscope optique confortait cette opinion. L'abondance des microalgues, essentiellement des diatomées et des dinoflagellés de taille comprise entre 20 et 200 µm, qui constituent le phytoplancton (voir photo 1), diminue

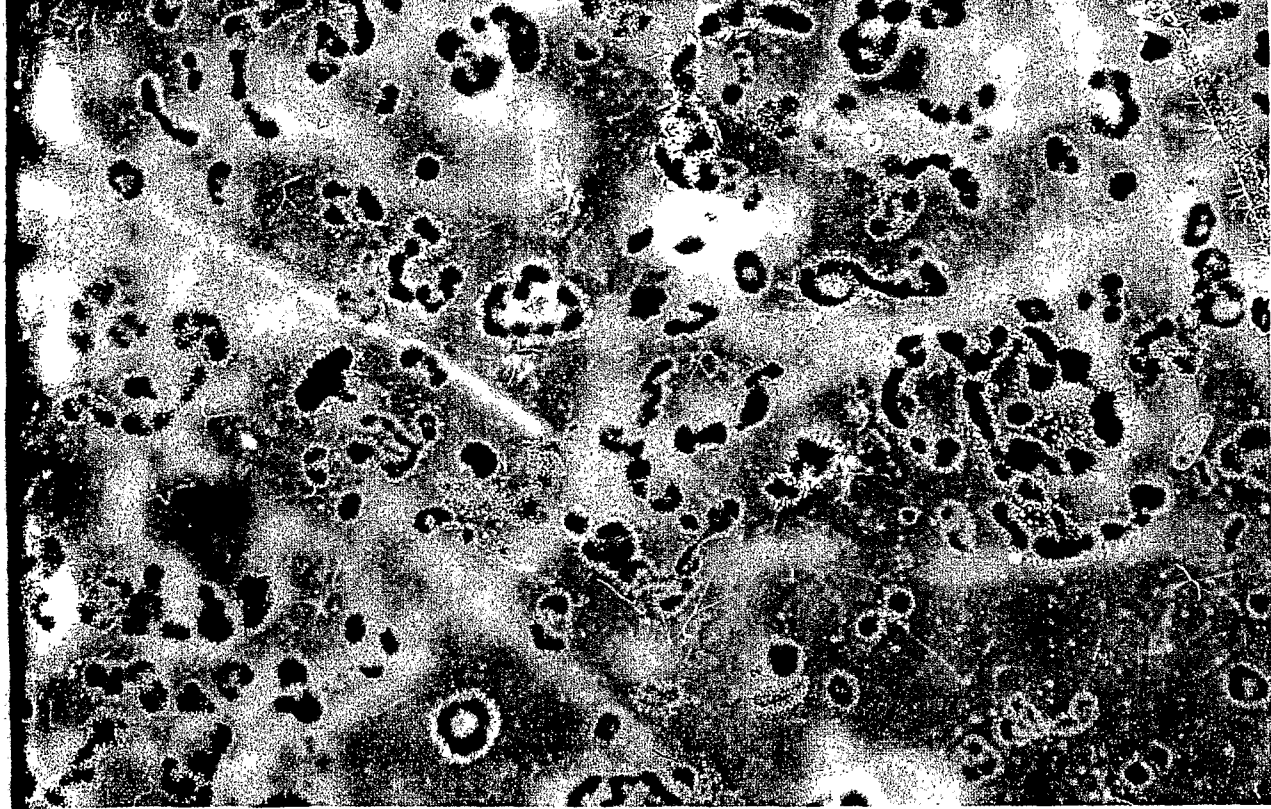


Étapes d'identification d'un picoeucaryote. De gauche à droite : • aspect de la culture en microscopie optique : les cellules, immobiles, sont disposées en grappe ou sont individualisées. Par cette technique, il est impossible de les caractériser d'avantage (© C Billard, Université de Caen, échelle = 10 µm). • Aspect d'une cellule en microscopie électronique à transmission, sur coupes ultrafines (© MJ Chrétiennot-Dinet, Observatoire océanologique de Banyuls-sur-Mer, échelle = 1 µm, P = plaste, N = noyau, G = appareil de Golgi). La présence d'un complexe nucléoplastidial (le noyau et le plaste sont réunis par une membrane externe commune) démontrent qu'il s'agit d'une algue brune (contenant de la chlorophylle a+c), et ce malgré l'apparence verdâtre de la culture en microscopie optique. • Analyse pigmentaire par chromatographie liquide haute pression (analyse effectuée par RG Barlow, laboratoire de Plymouth, Royaume-Uni). Les chlorophylles apparaissent en vert et les caroténoïdes en rouge. La présence de chlorophylle a+c est confirmée. La présence de 19'BF comme caroténoïde majoritaire détermine son appartenance à la classe des Pelagophyceae (Heterokonta).

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote : B*16958 Ex : 1





© O GAUTIER, BIOS

Photo 1 - Phytoplancton « classique » : ces microalgues (de 20 à 200 µm de diamètre) peuplent les eaux du plateau continental. Le picophytoplancton, composé d'organismes parfois inférieurs au micron, n'apparaît pas en microscopie optique.

ainsi que l'équipe de JB Waterbury (Institut océanographique de Woods Hole, Massachusetts) découvraient en haute mer d'abondantes cyanobactéries (appelées aussi algues bleues : des cellules procaryotes - dépourvues de noyau - capables de photosynthèse) de très petite taille (1 µm) du genre *Synechococcus*, jusque-là connu pour ses représentants d'eau douce (1, 2).

> L'océan au microscope électronique

Trois ans plus tard, en observant au microscope électronique des échantillons prélevés le long d'une radiale dans l'océan Atlantique, PW Johnson et JM Sieburth révélèrent la présence d'une grande quantité d'algues unicellulaires eucaryotes (cellules plus évoluées pourvues d'un noyau distinct) à peine plus grosses (de 1 à 3 µm), que l'on nomme aujourd'hui picoeucaryotes (3). Pour distinguer des organismes de l'ordre du micron, il a fallu recourir à une nouvelle technique : la cytométrie de flux (voir encadré). En 1988, grâce à cette méthode, l'équipe de SW Chisholm de l'Institut de technologie du Massachusetts (États-Unis) découvrit le plus petit (0,6 µm de diamètre) et le plus abondant des organismes photosynthétiques connus de la planète, le procaryote *Prochlorococcus* (4). L'ensemble de ces organismes chlorophylliens de 0,2 à 3 µm de diamètre est désormais appelé picophytoplancton. Le rôle de ces organismes largement majoritaires

dans les océans serait également essentiel dans d'autres écosystèmes (mer, baie, lagune, etc).

Les genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, de même que les picoeucaryotes, sont présents dans tous les océans. Ces trois types d'organismes occupent des niches écologiques différentes, bien que se recouvrant en partie. Les espèces du genre *Prochlorococcus* sont particulièrement adaptées aux zones oligotrophes (pauvres en sels nutritifs) où elles dominent. Les *Synechococcus* et les picoeucaryotes, quant à eux, se retrouvent partout, mais sont plus abondants lorsque les eaux s'enrichissent en sels nutritifs.

L'autre facteur déterminant la distribution du picophytoplancton est évidemment la lumière. Les *Synechococcus* préfèrent les eaux de surface bien éclairées. Les *Prochlorococcus* et les picoeucaryotes se rencontrent de préférence dans des eaux plus profondes, jusqu'à la base de la couche éclairée. Les populations de *Prochlorococcus* qui vivent en profondeur (jusqu'à 200 mètres) synthétisent une quantité importante de divinyl-chlorophylle *b*, un pigment accessoire absorbant de façon optimale la lumière bleue, la couleur du spectre solaire qui pénètre le plus profondément dans l'océan. Au contraire, les populations de *Prochlorococcus* adaptées à la vie en surface possèdent une faible quantité de ce pigment et résistent mieux aux fortes intensités lumineuses. À mi-profondeur, ces deux

peuplements cohabitent. On ne peut les distinguer que par cytométrie de flux, grâce à leur niveau différent de fluorescence rouge (5).

> Eaux bleues et eaux vertes

De même, il existe deux types de *Synechococcus* : ceux des eaux bleues du large et ceux des eaux vertes de la côte. Leur pigmentation différente leur permet d'absorber spécifiquement les longueurs d'onde lumineuses disponibles : ils présentent une véritable adaptation chromatique à la couleur de l'eau.

Ainsi, grâce à des caractéristiques complémentaires, les organismes du picophytoplancton colonisent la totalité des eaux océaniques, avec des concentrations inimaginables il y a seulement quinze ans : de 500 à 1,5 million de cellules par millilitre pour *Synechococcus*, de 100 000 à 400 000 cellules pour *Prochlorococcus* et environ 100 à 10 000 cellules par millilitre pour les picoeucaryotes. Les chiffres parlent d'eux-mêmes : à l'échelle de la planète, les océans assurent environ 50 % de la synthèse de matière organique à partir d'éléments minéraux et d'énergie solaire, ce que l'on appelle production primaire. Cela représente environ 50 gigatonnes de carbone par an. Les zones dominées par le picophytoplancton couvrent plus de 90 % de cette production (6).

Dans les zones intertropicales oligotrophes, l'abondance du picophytoplancton est remarquablement stable

(1) PW Johnson, JM Sieburth (1979) *Limnol Oceanogr* 24, 928-935.

(2) JB Waterbury et al (1979) *Nature* 277, 293-294.

(3) PW Johnson, JM Sieburth (1982) *J Phycol* 18, 318-327.

(4) SW Chisholm et al (1988) *Nature* 334, 340-343.

(5) Il a été récemment démontré que ces deux sous-populations sont en fait génétiquement différentes : L. Moore et al (1998) *Nature* (sous presse).

DES FORMES DE VIE INSOLITES

(6) D Antoine *et al* (1996) *Global Biogeochem Cycles* 10, 57-69.

(7) J Blanchot *et al* (1997) *CR Acad Sci Paris* 320, 925-931.

(8) S Jacquet *et al* (1998) *Limnol Oceanogr* (sous presse).

(9) D Vaulot *et al* (1995) *Science* 268, 1480-1482.

(10) C Courties *et al* (1995) *Nature* 370, 255.

(11) RA Andersen *et al* (1993) *J Phycol* 29, 701-715.

(12) Près de 200 espèces sont maintenues en culture. Voir site Internet : www.sb-roscoff.fr/phyto/phyto_fr.html

à l'échelle de l'année, du mois ou de la semaine. Et pourtant, celui-ci se renouvelle avec une incroyable dynamique. Ces organismes se divisent une fois par jour avec une parfaite synchronie, réglée sur l'alternance jour/nuit (7, 8, 9). Que deviennent les cellules produites ? Elles disparaissent au fur et à mesure de leur apparition, ingérées par des prédateurs à peine plus gros qu'elles, composés de ciliés et de flagellés non pigmentés : une interaction proie-prédateur bien réglée assure ainsi un équilibre stable tout au long de la journée. Les débris organiques (cellules mortes) sont recyclés sur place par des bactéries. L'ensemble forme ainsi un écosystème réduit mais apparemment complet, appelé boucle microbienne.

Si la composante procaryotique du picophytoplancton, constituée presque exclusivement des deux seuls genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, apparaît relativement peu diversifiée dans tous les océans, les picoeucaryotes possèdent, quant à eux, une fascinante diversité (voir photo 2). Il faut recourir à tout un arsenal de techniques pour les caractériser. Dans un premier temps, la microscopie électronique, à balayage ou à transmission, est obligatoire. Agrémentés parfois d'une enveloppe, ou thèque, d'écaïlles, d'un ou deux fla-

de picoeucaryotes se sont multipliées. La palme revient à un chlorophyte, *Ostreococcus tauri*, qui est pour l'instant le plus petit eucaryote connu au monde. Du haut de son 0,8 µm de diamètre, cette espèce constitue à elle seule 86 %, en moyenne annuelle, des cellules phytoplanctoniques de l'étang de Thau, près de Montpellier (10).

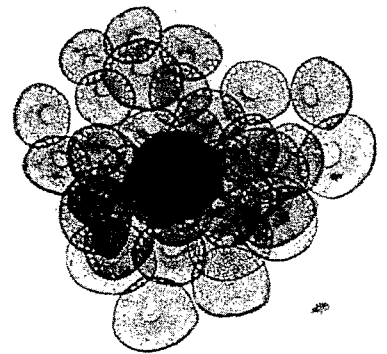
Outre des espèces inconnues mais appartenant à des genres déjà répertoriés, de nouvelles lignées d'algues ont été décrites. Deux classes inédites ont ainsi été récemment découvertes : l'équipe américaine de RA Andersen a dévoilé les *Pelagophyceae* (11) et nous-mêmes avons décrit les *Bolidophyceae*.

> Le plus petit eucaryote connu

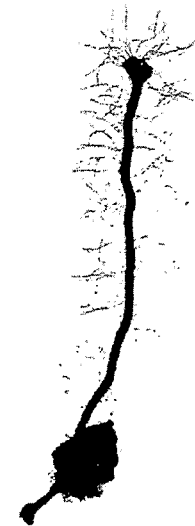
Les océans, qui occupent 71 % de la superficie de la terre, doivent être considérés aujourd'hui comme de véritables réservoirs d'espèces nouvelles. Seuls l'isolement et le maintien en culture permettent de décrire ces espèces, ce qui a amené le laboratoire Phytoplancton océanique de Roscoff à se doter d'une algothèque consacrée aux souches picophytoplanctoniques (12).

Cependant, la plupart des picoeucaryotes sont fragiles et leur mise en culture délicate. Il est dès lors difficile d'estimer leur diversité à sa juste valeur. Les moyens d'étude traditionnels ayant atteint leurs limites, notre laboratoire se tourne depuis quelques années vers la biologie moléculaire. En extrayant l'ADN des communautés naturelles, il est possible d'étudier leur diversité sans devoir les cultiver. SY Moon van der Staay et ses collaborateurs, du laboratoire de Roscoff, ont ainsi recherché et séquencé les gènes codant les petites sous-unités ribosomales (dites 18S) présents dans un échantillon d'eau de l'océan Pacifique équatorial. Ils ont révélé une diversité insoupçonnée au sein d'une classe que l'on pensait pourtant bien connaître : celle des Prymnésiophycées. Six nouvelles lignées ont alors été mises en évidence.

De nombreuses questions subsistent cependant. Nous ne sommes qu'au commencement de l'exploration d'un monde nouveau. Il nous faut par exemple replacer le picophytoplancton dans son environnement. Comment se structure et fonctionne un écosystème qui, à l'échelle du micron, se compose de centaines de bactéries, de virus, de picoplancton



b



e

Photo 2 : Picoeucaryotes appartenant à des classes différentes. (b) : *Petasaria sp* (classe inconnue) ; (e) espèce nouvelle (*Chrysophyceae*) (microscope électronique à transmission, échelle 1 µm).

La cytométrie de flux en océanographie

La cytométrie de flux est une technique dérivée de la recherche biomédicale, utilisée en océanographie depuis quinze ans. C'est un outil puissant permettant l'analyse d'environ 1 000 cellules par seconde. Excitée par une lumière bleue (488 nm) au moyen d'un laser, la chlorophylle émet de la fluorescence dans le rouge et la phycoérythrine dans l'orange. Les paramètres de fluorescence couplés à l'acquisition d'un paramètre de taille permettent de distinguer dans un prélèvement océanique trois grands peuplements. Les *Synechococcus* (Syn) caractérisés par leur double fluorescence rouge et orange, les *Prochlorococcus* (Próc) et les picoeucaryotes (Euc) qui se distinguent par des tailles et une concentration en chlorophylle différente. On calibre l'appareil en ajoutant des billes fluorescentes de 0,95 µm qui font office de standard interne.

gelles, les picoeucaryotes étonnent par leur aspect. Parfois, et cela complique singulièrement leur caractérisation, les cellules sont sphériques, sans aucune ornementation (forme coccoïde). Il faut alors effectuer des études ultrastructurales et pigmentaires pour les identifier (voir figure p 22). Enfin, dans la majorité des cas, une caractérisation génétique est obligatoire pour pallier l'absence de particularités morphologiques.

En l'espace de dix ans, les descriptions

Photo 2 : Picoeucaryotes appartenant à des classes différentes.

MJ Chrétiennot-Dinet *et al* (1993) A classification of the marine phytoplankton of the world from class to genus. *Phycologia* 32, 159-179.