

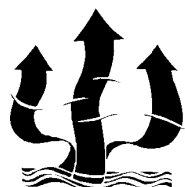
*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001: i-xvi + 1-406*

FOURTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON *CAULERPA TAXIFOLIA*

LERICI, ITALY, FEBRUARY 1st-2nd, 1999

Edited by

Vincent Gravez
Sandrine Ruitton
Charles-François Boudouresque
Laurence Le Direac'h
Alexandre Meinesz
Giovanni Scabbia
Marc Verlaque



*Published by GIS Posidonie
Marseilles, France, 2001*



*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001: i-xvi + 1-406*

ISBN 2-905540-27-3

© 2001

Published and distributed by GIS Posidonie
Parc Scientifique et Technologique de Luminy,
Case 901, 13288 Marseilles cedex 09, France
<http://www.com.univ-mrs.fr/gisposi/>

Printed in France by FOUQUE S.A.
71, Chemin Gilbert Charmasson
13 016 Marseilles – + (33) 4 91 03 87 80

TABLE OF CONTENTS

Organization of the workshop.....	vii
Organizations contributing to the financing of the program.....	ix
Laboratories and research organizations participating in the program	x
Laboratories and organizations involved in public awareness campaigns and educational programs	xii
Participants.....	xiii
BOUDOURESQUE C.F., SCABBIA G., MEINESZ A., GRAVEZ V. Towards a Mediterranean network for research into and management of the spread of invasive species of <i>Caulerpa</i> . What future for the objectives of the European Commission Life program ?	1-2
BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., GRAVEZ V. An overview of the present state of knowledge on <i>Caulerpa taxifolia</i> in the Mediterranean sea.....	3-4

LECTURES

THE SPECIES AND ITS ORIGIN

MEYER U., MEINESZ A. Inquiry on the aquarium cultivation of <i>Caulerpa taxifolia</i> in Europe before its introduction into the Mediterranean Sea.	7-11
JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F. Intra-individual genetic polymorphism in <i>Caulerpa taxifolia</i> populations and related <i>Caulerpa</i> species.	12-18
CAYE G., SANDMEIER M., MICHAULT C., PILLEN T., MEINESZ A. Preliminary study on enzyme polymorphism of <i>Caulerpa taxifolia</i> from the Mediterranean and of other origins.	19-22
PIGHINI M., DINI F. Insights into the basis of variation among populations of <i>Caulerpa taxifolia</i>	23-29

CARTOGRAPHIC SURVEY, MONITORING, PUBLIC AWARENESS

BELSHER T., PEIRANO A., PUCCINI M., BOUTBIEN M., BLANC M., COROLLER D., COTTALORDA J.M., DAGAULT F., EMERY E., FUGAZZI P., GORAGUER H., LE GALL E., LUNVEN M., MARCFELD J. P., PELEAU M., PUCCI R., THIBAUT T. Acquisition d'éléments qualitatifs et quantitatifs sur l'expansion de l'algue <i>Caulerpa taxifolia</i> en 1998 (Alpes-Maritimes, Principauté de Monaco, Ligurie).	33-55
BELSHER T., HOULGATTE E. Carte des sédiments superficiels marins, des herbiers à phanérogames et des peuplements à <i>Caulerpa taxifolia</i> , de Menton au Cap d'Ail, Echelle 1/7500 (43°45'N).	56

VICENTE N., LARDEAU A.G., LELONG P., DESCATOIRE J. Suivi de l'évolution de <i>Caulerpa taxifolia</i> dans la lagune du Brusç (Var - France). Impact des activités humaines.	57-65
TORCHIA G., PALANDRI G., CIMA C., RELINI M., RELINI G. Map of <i>Caulerpa taxifolia</i> around Imperia (Italy).	66-70
PIAZZI L., CECCHERELLI G., CINELLI F. Expansion de <i>Caulerpa taxifolia</i> et de <i>Caulerpa racemosa</i> le long des côtes toscanes (Italie), situation en 1998.	71-77
ORESTANO C., PIRROTTA M., AMMIRATO E. Spread of <i>Caulerpa taxifolia</i> in Sicily and Calabria (Italy).	78-84
ARANDA A., GUILLEN J.E., GRAS D., BUENO M., CUESTA F. Le réseau de surveillance pour détecter <i>Caulerpa taxifolia</i> sur le littoral du pays Valencien (Espagne). Années 1993 à 1998.	85-91
BALLESTEROS E., PINEDO S., GARCIA M. Monitoring of a shallow water population of <i>Caulerpa taxifolia</i> (Vahl) C. Agardh in Porto Petro (Mallorca, Balearic Islands): data from 1998.	92-99
MATRICARDI G., PORRO R., PIROLA E. <i>Caulerpa taxifolia</i> : an ecological problem transformed into a scientific information issue.	100-107

BIOLOGY, TOXICOLOGY, ECOLOGICAL CONSEQUENCES

CECCHERELLI G., PIAZZI L., CINELLI F. The role of vegetative fragments in the recruitment process of <i>Caulerpa taxifolia</i> and <i>Caulerpa racemosa</i>	111-117
ZAVODNIK N., IVEŠA L., TRAVIZI A., JAKLIN A. Recent study of <i>Caulerpa taxifolia</i> (Chlorophyta) settlement at Malinska, Croatia (North Adriatic Sea, Krk island).	118-127
MANCINI I., GUELLA G., DEFANT A., CANDENAS M.L., ARMESTO C.P., DEPENDTORI D., PIETRA F. Polar metabolites of the green seaweed <i>Caulerpa taxifolia</i> that is invading the Mediterranean Sea, and a comparison with tropical strains from bioactive terpenoids.	128-137
PESCI-BARDON C., PESANDO D., HUITOREL P., AMADE P., JONCHERAY L., GIRARD J.P. Antiproliferative potency of Caulerpenyne is related to its interference with metaphasic processes.	138-149
BRUNELLI M., MOZZACHIODI R., SCURI R., ZACCARDI M.L. Effects of Caulerpenyne on the nervous system of the leech <i>Hirundo medicinalis</i> : electrophysiological and neuroethological results.	150-157
AMADE P., JONCHERAY L., LORU F., PESANDO D. Caulerpenyne behaviour in sea water: by-product investigations.	158-167
SANDEAUX R., UCHIMURA M., AMADE P., LARROQUE C. Influence of <i>Caulerpa taxifolia</i> on enzymatic detoxifying system of the fish <i>Scorpaena porcus</i>	168-174

ROLLINO S., KNOEPFFLER PEGUY M., GREMARE A. Impact écologique de <i>Caulerpa taxifolia</i> sur le développement et la croissance de <i>Cystoseira barbata</i> (Phaeophyceae, Fucales).	175-184
FERRAT L., FERNANDEZ C., DUMAY O. Analysis of the phenolic compounds in <i>Posidonia oceanica</i> from sites colonized by <i>Caulerpa taxifolia</i>	185-194
ANTOLIĆ B., ŽULJEVIĆ A., ŠPAN A. Preliminary results of the epiphytic flora found on <i>Caulerpa taxifolia</i> in Stari Grad Bay (Hvar island, Croatia).	195-203
VICENTE N., LARDEAU A.G., RIVA A., DESCATOIRE J. Foraminifères épiphytes de <i>Caulerpa taxifolia</i> dans la lagune du Brusç (Var - France).	204-213
PEIRANO A. Present status and annual growth variations in <i>Posidonia oceanica</i> colonised by <i>Caulerpa taxifolia</i> : the case of Imperia (Italy, NW Mediterranean).	214-219
MOLENAAR H. Impact de <i>Caulerpa taxifolia</i> sur les espèces et écosystèmes méditerranéens : la compétition avec <i>Posidonia oceanica</i>	220-231
JAUBERT J., CHISHOLM J., DUCROT D., RIPLEY H., KHELIF L., GENDRIER L. Intéractions entre l'algue <i>Caulerpa taxifolia</i> et la phanérogame <i>Posidonia oceanica</i> dans la baie de Menton : données préliminaires obtenues par imagerie multispectrale aéroportée et photographie aérienne.	232-235
HARMELIN-VIVIEN M., FRANCOUR P., HARMELIN J.G., LE DIREACH L. Dynamics of fish assemblage alterations caused by the introduced alga <i>Caulerpa taxifolia</i> near Menton (France).	236-245
RELINI M., TORCHIA G., RELINI G. Fishes of bottoms dominated by <i>Posidonia oceanica</i> , <i>Cymodocea nodosa</i> and <i>Caulerpa taxifolia</i>	246-255

CONTROL TECHNIQUES AND STRATEGY

ŽULJEVIĆ A., ANTOLIĆ B. Partial eradication of <i>Caulerpa taxifolia</i> in Stari Grad Bay (Croatia).	259-265
ŽULJEVIĆ A., ANTOLIĆ B. Appearance and eradication of <i>Caulerpa taxifolia</i> in the Barbat channel (Croatia).	266-269
GAVACH C., SANDEAUX R., SANDEAUX J. Can we predict the eco-toxicological effects resulting from the treatment of <i>Caulerpa taxifolia</i> by cupric ions ?	270-280
BONNAL L., SANDEAUX R., SANDEAUX J., GAVACH C., UCHIMURA M., BACCOU J.C., COMBES J.F., GRAVEZ V., PALLUY F. Destruction of <i>Caulerpa taxifolia</i> by copper diffusion from textile covers. Study of copper toxicity and results <i>in situ</i>	281-288
CHARRIN J. P., EMERY E., GRAVEZ V. Procédé industriel d'éradication de <i>Caulerpa taxifolia</i> par diffusion d'algicide au contact de l'algue : développements, évaluations et perspectives.	289-294
GIANGUZZA P., JENSEN K., CHEMELLO R., RIGGIO S. Preliminary data on the food selection of <i>Oxynoe olivacea</i> (Mollusca, Opisthobranchia, Sacoglossa).	295-297

THIBAUT T., COQUILLARD P., VAUGELAS J. de, COQUILLARD Y. Preliminary computer model of the biological control of *Caulerpa taxifolia*..... 298-302

RELINI G., MANARATTI G., COPPO S. Steps undertaken by the region of Liguria (Italy) for the study of the allochthonous *Caulerpa* species. 303-312

SPREAD OF CAULERPA RACEMOSA : KINETICS AND CONSEQUENCES

LAKKIS S., NOVEL-LAKKIS V. Importance des Caulerpes dans les peuplements algaux de la côte Libanaise (Méditerranée orientale)..... 315-327

TOLAY M., EVIRGEN A., CIRIK S. Observations of *Caulerpa racemosa* on Turkish coasts of the Aegean Sea and the Mediterranean Sea. 328-333

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B. Occurrence and phytosociology of *Caulerpa racemosa* in Saronikos Gulf (Aegean Sea, Greece). 334-337

MAGRI M., PIAZZI L., SERENA F. La présence de *Caulerpa racemosa* le long des côtes septentrionales de la Toscane et les conséquences possibles sur l'activité de pêche..... 338-344

PIAZZI L., CECCHERELLI G., BALATA D., CINELLI F. Description des peuplements à *Caulerpa taxifolia* et à *Caulerpa racemosa* à Calafuria (Livorno). 345-348

MATRICARDI G., PIATTI F. Morphological features of the first settlement of *Caulerpa racemosa* in the gulf of Genoa (North Western Mediterranean)..... 349-351

BUIA M.C., GAMBI M.C., TERLIZZI A., MAZZELLA L. Colonization of *Caulerpa racemosa* along the Southern Italian coasts : I. Distribution, phenological variability and ecological role. 352-360

FAMÀ P., PROCACCINI G., MAZZELLA L. Colonization of *Caulerpa racemosa* along the Southern Italian coasts: II. First approaches to the study of genetic diversity. 361-370

PIAZZI L., CECCHERELLI G., CINELLI F. Effet de *Caulerpa racemosa* sur la structure des communautés algales benthiques 371-375

CECCHERELLI G., PIAZZI L., CINELLI F. The development of *Caulerpa racemosa* at the margin of *Posidonia oceanica*..... 376-384

CECCHERELLI G., PIAZZI L., CAMPO D., CINELLI F. The response of *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii* to the presence of *Caulerpa racemosa*..... 385-392

OTHER INTRODUCED SPECIES

DI MARTINO V. Vegetali marini tropicali in Calabria e Sicilia (Italy). Distribuzione ed ecologia. 395-402

PIAZZI L., BALATA D., CINELLI F. Incidence des Rhodophyceae exotiques *Acrothamnion preissii* et *Womersleyella setacea* sur le peuplement algal des rhizomes de *Posidonia oceanica*. 403-406

Organization of the workshop

THE « FOURTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON CAULERPA TAXIFOLIA » IS ORGANIZED BY

GIS POSIDONIE

Groupement d'Intérêt Scientifique pour l'Etude de l'Environnement Marin (Marseille, France)

ENEA

Ente per le Nuove Tecnologie l'Energia e l'Ambiente, Centro Ricerche Ambiente Marino (La Spezia, Italy)

LEML

Laboratoire Environnement Marin Littoral (Université de Nice-Sophia Antipolis, France)

COM

Centre d'Océanologie de Marseille, Unité Mixte de Recherche CNRS n° 6540 « Diversité biologique et fonctionnement des écosystèmes marins littoraux » (Université de la Méditerranée, Marseille, France)

Scientific secretariat : Vincent GRAVEZ (1),

Organisation : Patrizia MAFFEI (2),

Guillaume BERNARD ⁽¹⁾, Patrick BONHOMME ⁽¹⁾, Charles François BOUDOURESQUE ⁽¹⁻⁴⁾, Yann COQUILLARD ⁽¹⁾, Jean Michel COTTALORDA ⁽³⁾, Nicolas DIVETAIN ⁽¹⁾, Simone FOURNIER ⁽¹⁾, Stefania FURIA ⁽²⁾, Agnès GELIN ⁽¹⁾, Oreste LAVARELLO ⁽²⁾, Laurence LE DIREACH ⁽¹⁻⁴⁾, Alexandre MEINESZ ⁽¹⁻³⁾, Antonio MORI ⁽²⁾, Enrica PALESTINI ⁽²⁾ & Giovanni SCABBIA ⁽²⁾

⁽¹⁾ GIS POSIDONIE : Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Case 901, 13288 Marseille cedex 09, France. [<http://www.com.univ-mrs.fr/gisposi/>]

⁽²⁾ ENEA : Centro Ricerche Ambiente Marino, La Spezia, Casella Postale 316, 19100 La Spezia, Italy. [<http://estaxp.santatersa.enea.it>]

⁽³⁾ LEML : Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, 28 av. Valrose, 06034 Nice cedex, France. [<http://www.unice.fr/LEML>]

⁽⁴⁾ COM : Centre d'Océanologie de Marseille, Unité Mixte de Recherche CNRS 6540 DIMAR, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Case 901, 13288 Marseille cedex 09, France and Station Marine d'Endoume, rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille, France. [<http://www.com.univ-mrs.fr>]

ORGANIZATIONS CONTRIBUTING TO THE FINANCING OF THE PROGRAM



EUROPEAN COMMISSION

France

Conseil régional Provence-Alpes-Côte d'Azur

Conseil régional Languedoc Roussillon

Assemblée de Corse

Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement

Novelect

Fondation d'Entreprise Total

Hewlett Packard

ANVAR

Spain

Generalitat Valenciana – Conselleria de Agricultura y Medio Ambiente

Govern Balear – Direcció general Pesca i Cultius Marins

Italy

ENEA – Ente per le Nuove tecnologie, l'Energia e l'Ambiente

ICRAM – Istituto Centrale per la Ricerca scientifica e tecnologica Applicata al Mare

This workshop is the final meeting of the participants in the LIFE research program EC-DGXI « Demonstration, promotion and technical assistance for local authorities » n° LIFE95/F/A31/EPT/782

«CONTROL OF THE SPREAD OF CAULERPA TAXIFOLIA IN THE MEDITERRANEAN SEA »

LABORATORIES AND RESEARCH ORGANIZATIONS PARTICIPATING IN THE PROGRAM

CROATIA

CENTER FOR MARINE RESEARCH – RUDER BOSCOVIĆ INSTITUT, GIORDANO PALIAGA, 5, 52210 ROVINJ, CROATIA

INSTITUTE OF OCEANOGRAPHY AND FISHERIES, SPLIT, SETALISTE I. MESTOVICA 63, CROATIA

FRANCE

ASSOCIATION POUR LE DEVELOPPEMENT DE PROCEDES DE MAITRISE DE *CAULERPA TAXIFOLIA*, VAR ANIM'EAU, AV. PASTEUR, 83270 SAINT CYR SUR MER, FRANCE

CENTRE D'OCEANOLOGIE DE MARSEILLE – PARC SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE DE LUMINY, ROUTE DE LUMINY, CASE 901, 13288 MARSEILLE CEDEX 09, FRANCE – STATION MARINE D'ENDOUME, RUE DE LA BATTERIE DES LIONS, 13007 MARSEILLE, FRANCE.

CERAM – FACULTE DES SCIENCES DE ST. JEROME, UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III, AV. ESCADRILLE NORMANDIE-NIEMEN, CASE 342, 13397 MARSEILLE CEDEX 13, FRANCE

CEVAREN – UFR SCIENCES ET TECHNIQUES, 20250 CORTE, FRANCE

COMPAGNIE DES SALINS DU MIDI ET DES SALINS DE L'EST, 68 COURS LEON GAMBETTA, 34063 MONTPELLIER CEDEX 2, FRANCE

GIS POSIDONIE - PARC SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE DE LUMINY, ROUTE DE LUMINY, CASE 901, 13288 MARSEILLE CEDEX 09, FRANCE

IFREMER – CENTRE DE LA SEYNE, BP 330, 83501 LA SEYNE CEDEX, FRANCE

IFREMER – CENTRE DE BREST, BP 70, 29263 PLOUZANE, FRANCE

LABORATOIRE D'ECOLOGIE VEGETALE ET CELLULAIRE, URA CNRS 1152, UNIVERSITE D'AUVERGNE, BP 38, 63001 CLERMONT-FERRAND CEDEX, FRANCE

LABORATOIRE ENVIRONNEMENT MARIN LITTORAL – UNIVERSITE DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS, FACULTE DES SCIENCES, PARC VALROSE, 06034 NICE CEDEX 2, FRANCE

LABORATOIRE INFORMATIQUE, ISIMA – UNIVERSITE BLAISE PASCAL, CAMPUS DE CEZEAUX,
PO BOX 125, 63173 CLERMONT-FERRAND, FRANCE

LABORATOIRE MATERIAUX ET PROCEDES MEMBRANAIRES – CNRS ROUTE DE MENDE, BP
5051, 34033 MONTPELLIER, FRANCE

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ET DE TOXICOLOGIE ENVIRONNEMENTALES – UNIVERSITE DE
NICE-SOPHIA ANTIPOLIS, FACULTE DES SCIENCES, BP 71 PARC VALROSE, 06108 NICE CEDEX
2, FRANCE

MEDINTEC – 8, RUE DU TILLEUL, 34290 LEURIAN/BÉZIERS, FRANCE

SOCIETE DE PROTECTION DE LA NATURE – MAISON DE LA RESERVE, ROUTE NATIONALE DI
BAGNAS, DOMAINE DU GRAND-CLAVELET, 34300 AGDE, FRANCE

TECHNOMEMBRANES-POLE MEMBRANES – PARC SCIENTIFIQUE AGROPOLIS, BAT 15, 34397
MONTPELLIER, FRANCE

ITALY

DIPARTIMENTO DI SCIENZA DELL'AMBIENTE E DEL TERRITORIO, UNIVERSITÀ DI PISA,
VIA A. VOLTA, 56126 PISA, ITALY

DIPARTIMENTO DI SCIENZA BOTANICHE – UNIVERSITÀ DI PALERMO, VIA ARCHIRAFI, 38,
90123 PALERMO, ITALY

ISTITUTO ANATOMIA COMPARATA – UNIVERSITÀ DI GENOVA, VIALE BENEDETTO XV, 5,
16132 GENOVA, ITALY

ISTITUTO DI CHIMICA – UNIVERSITÀ DI TRENTO, 38050 POVO, TRENTO, ITALY

SPAIN

CSIC – CENTRE ESTUDIS AVANÇATS, CAMI DE SANTA BARBARA S/N, BLANES, 17300 GIRONA,
SPAIN

DIRECCIÓ GENERAL PESCA I CULTIUS MARINS, GOVERN BALEAR, C/FONERS, 10, 07006
PALMA DE MALLORCA, SPAIN

INSTITUT D'ECOLOGIA LITORAL, C/BENIMAGRELL, 5, 03560 EL CAMPELLO, ALICANTE, SPAIN

TUNISIA

INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES ET TECHNOLOGIE DE LA MER – 28, RUE DU 2 MARS 1934,
2025 SALAMMBO, TUNISIA

**LABORATORIES AND ORGANIZATIONS INVOLVED IN PUBLIC AWARENESS
CAMPAIGNS AND EDUCATIONAL PROGRAMS**

FACULTÉ DES SCIENCES DE TUNIS, LABORATOIRE DE BOTANIQUE FONDAMENTALE ET APPLIQUÉE, CAMPUS UNIVERSITAIRE, TUNIS, TUNISIA

GREENPEACE TUNISIA – 51, AV. ABDELAZIZ THALBI MENZAH, 9, 1013 TUNIS, TUNISIA

INSTITUTE OF MARINE SCIENCES AND TECHNOLOGY – UNIVERSITY OF DOKUZ EYLUL, 1884/4 SOKAK N°10, INCIRALTI 35340 IZMIR, TURKEY

LABORATOIRE BENTHOS – CNRM, AGIOS KOSMAS HELLENIKON, 16604 ATHENS, GREECE

LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE ET BIOORGANIQUE – FACULTÉ DES SCIENCES, UNIVERSITÉ CHOUAIB DOUKKALI, EL JADIDA, MOROCCO

MAIRIE DE SIX-FOURS-LES PLAGES – HOTEL DE VILLE, PLACE DU 18 JUIN 1940, 83183 SIX-FOURS-LES PLAGES CEDEX, FRANCE

MAIRIE D'HYÈRES – SERVICE MUNICIPAL DE L'ENVIRONNEMENT, 12 AV. JOSEPH CLOTIS, BP 709, 83412 HYÈRES CEDEX, FRANCE

MINISTRY FOR THE ENVIRONMENT – ENVIRONMENT PROTECTION DEPARTMENT EDUCATION BUILDING, CMR 02 FLORIANA, MALTA

PARC NATIONAL DE PORT-CROS – CASTEL STE. CLAIRE, RUE STE. CLAIRE, 83400 HYÈRES, FRANCE

SCUBADIVERS SPORT CLUB – SCIENTIFIC DIVISION AND MARINE ENVIRONMENTAL DIVISION, ISKELE CIKMAZI, N°69, CADDEBOSTAN, 81070 ISTANBUL, TURKEY

SYNDICAT DES COMMUNES DU LITTORAL VAROIS, MAIRIE DU LAVANDOU, HOTEL DE VILLE, PLACE ERNEST REYER, 83980 LE LAVANDOU, FRANCE

TTKD – BODRUM/TR – TURKISH ASSOCIATION FOR THE CONSERVATION OF NATURE, BODRUM BRANCH, TURKEY

PARTICIPANTS

ALGERIA

Mr. CHEBOUKI (Kouba)
Aouatif DJEDA (Ghardaia)
Rachid SEMROUD (Alger)

AUSTRALIA

Ron THRESHER (Hobart)

AUSTRIA

Lisi FORSTHUBER (Vienna)
Astrid HOLZER (Vienna)

CROATIA

Nevenka ZAVODNIK ("Ruder Bosković" Institute, Centre for Marine Research, Rovinj)
Ante ŽULJEVIĆ (Institut d'Océanographie et des Pêches de Split)

FRANCE

Philippe AMADE (INSERM, Nice)
Julio AMAGO (Marseille)
Thomas BELSHER (IFREMER, Brest)
Charles-François BOUDOURESQUE (UMR Dimar, Marseille)
Nelson CARVALHO (LEML, Nice)
Gilberte CAYE LEML, (LEML, Nice)
Jean Pierre CHARRIN (NOVELECT Provence-Alpes-Côte d'Azur, Marseille)
Patrick COQUILLARD (Université de Clermond-Ferrand)
Yann COQUILLARD (GIS, Posidonie, Marseille)
Jean Michel COTTALORDA (LEML, Nice)
Christophe DESTOMBE (Villeneuve-d'Ascq)
Adeline DEVLIEGER (Marseille)
Nicolas DIVETAIN (GIS Posidonie, Marseille)
Jean Pierre DUTRUGE (Agence Paysage, Coordination des programmes Life pour la France)
Eric EMERY (IFREMER, La Seyne Sur Mer)
Stéphanie ESCOUBET (Agay)
Pierre ESCOUBET (Agay)
Eva FLO ARCAS (Marseille)
Catherine FERNANDEZ (Université de Corse, Corte)
Patrice FRANCOUR (LEML, Nice)
Claude GAVACH (CNRS, Montpellier)
Agnés GELIN (GIS Posidonie, Marseille)
Vincent GRAVEZ (GIS Posidonie, Marseille)
Mireille HARMELIN-VIVIEN (UMR Dimar, Marseille)
David HILL (Université de Clermond-Ferrand)
Bernard JAFFRENNOU (ADPMCT, Saint Cyr Sur Mer)
Mrs. JAFFRENNOU (ADPMCT, Saint Cyr Sur Mer)
Michèle KNOEPFLER-PEGUY (Laboratoire Arago, Banyuls Sur Mer)
Margarida LAMAS GARCIA
Anne Gaëlle LARDEAU (Marseille)
Anne LASSAGNE (Marseille)
Laurence LE DIREAC'H (GIS Posidonie, Marseille)
Alexandre MEINESZ (LEML, Nice)
Yoann MERY (Val De Reuil)
Isabelle MEUSNIER (Villeneuve-d'Ascq)
Heike MOLENAAR (LEML, Nice)

Véronique NIZON (TV France 3)
Gérard PERGENT (Corte)
Danielle PESANDO (INSERM, Nice)
Catherine PESCI BARDON (Nice)
Pierre REBOUILLON (Marseille)
David ROY (GIS Posidonie, Marseille)
Thierry THIBAUT (LEML, Nice)
Masayuki UCHIMURA (Montpellier)
Myriam VALERO (Villeneuve-d'Ascq)
Nardo VICENTE (CERAM, Marseille)

GERMANY

Ulrike MEYER (Kiel)

GREECE

Panayotidis PANAYOTIDIS (Centre National des Recherche Marines, Athens)
G. GABRIELIDES (Plan d'Action pour la Méditerranée, Athens)

ITALY

Mariella ABBATE (ENEA, La Spezia)
Nicolo ALONZO (Genova)
Simone BAVA (Genova)
Giada BRIGNONE (Genova)
Marco BRUNELLI (Pisa)
Maria C. BUIA (Ischia)
Simona BUSSOTTI (Ischia)
Giulia CECCHERELLI (Pisa)
Francesco CINELLI (Pisa)
Silvia COCITO (ENEA, La Spezia)
Stefano COPPO (ENEA, La Spezia)
Giulia DE ANGELIS (Genova)
Anna DE BIASI (Livorno)
Stefano DETTORI (Cagliari)
Mr. DE SORTIS (Milano)
Marta DI CARLO (Palermo)
Vicenzo DI MARTINO (Catania)
Paola DI NITTO (ENEA, La Spezia)
Fernando DINI (Pisa)
Mauro DURANTE (Pisa)
Virginia DOLCINI (Genova)
Patrizia FAMA (Ischia)
Francesca FERDEGHINI (ENEA, La Spezia)
Vincenzo FERRARA (Roma)
Stefania FURIA (ENEA, La Spezia)
Ilaria GALLIZIA (Genova)
Maria Cristina GAMBI (Ischia)
Paola GIANGUZZA (Palermo)
Ivan GUALA (Oristano)
Paolo GUIDETTI (Ischia)
Mrs. GIULIO IZZO (Roma)
Oreste LAVARELLO (ENEA, La Spezia)
Patrizia MAFFEI (ENEA, La Spezia)
Michele MAGRI (Livorno)
Luisa MANGIALAJO (Genova)
Gloria MANARATTI (Genova)
Tiziana MANNARINO (ENEA, La Spezia)
Giorgio MATRICARDI (Genova)

Riccardo METALPA (ENEA, La Spezia)
Mr. MILAZZO (La Spezia)
Milena MODENA (Genova)
Claudia MORGANTI (ENEA, La Spezia)
Antonio MORO (ENEA, La Spezia)
Carla MORRI (ENEA, La Spezia)
Carlo Nike BIANCHI (ENEA, La Spezia)
Carla ORESTANO (Palermo)
Enrica PALESTINI (ENEA, La Spezia)
Andrea PEIRANO (ENEA, La Spezia)
Luigi PIAZZI (Pisa)
Francesco PIETRA (Pisa)
Monica PIGHINI (Pisa)
Simona PISARONI (ENEA, La Spezia)
Valentina PUCCIO (Genova)
Gabriella PROCACCINI (Napoli)
Marco RELINI (Genova)
Guilio RELINI (Genova)
Nadia REPETTO (Genova)
Silvano RIGGIO (Palermo)
Attilio RINALDI (Roma)
Sara ROLLIMO (Pino Torinese)
Giampetro SARA (La Spezia)
Giovanni SCABBIA (ENEA, La Spezia)
Fabrizio SERENA (Livorno)
Sergio SGORBINI (ENEA, La Spezia)
Giorgio TEDOLDI (Lerici)
Giovanni TORCHIA (Genova)
Walter TORRI (La Spezia)
Ugo UGOLINI (La Spezia)
Marino VACCHI (Roma)
Paolo VARELLA (Roma)

LEBANON

Sami LAKKIS (Byblos-Jbeil)

LIBYA

Abdalla ASHUR ELMANSORI (Tripoli)

MALTA

Stevens DARRIN (Floriana)

MONACO

Jean JAUBERT (Monaco)

SPAIN

Aurelio ARANDA LOPEZ (IEL, Alicante)
Enric BALLESTEROS (CSIC, Blanes)
Antonio GRAU (Govern Balear, Palma – Mallorca)

SWITZERLAND

Olivier JOUSSON (Chene-Bougeries)
Louisette ZANINETTI (Chene-Bougeries)

THE NETHERLANDS

Janine OLSEN (Haren)
Wytze T. STAM (Haren)

TUNISIA

AslamLLOULI (Tunis)

Habib LANGAR (Institut National des Sciences & Technologies de la Mer de Tunisie)

TURKEY

Sukran CIRIK (Izmir)

Mustafa TOLAY (Istanbul)

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001: i-xvi + 1-406*

**TOWARDS A MEDITERRANEAN NETWORK FOR RESEARCH INTO AND
MANAGEMENT OF THE SPREAD OF INVASIVE SPECIES OF *CAULERPA*.
WHAT FUTURE FOR THE OBJECTIVES OF THE EUROPEAN
COMMISSION LIFE PROGRAM ?**

Charles-François BOUDOURESQUE^{1,2}, Giovanni SCABBIA³, Alexandre MEINESZ^{1,4} & Vincent GRAVEZ¹

¹ *GIS Posidonie, Parc Scientifique & Technologique de Luminy, case 901, 13288 Marseille cedex 9, France*

² *Centre d'Océanologie de Marseille, UMR CNRS DIMAR 6540, Parc Scientifique & Technologique de Luminy, case 901, 13288 Marseille cedex 9, France*

³ *ENEA Santa Teresa, La Spezia, Italy*

⁴ *Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice Sophia-Antipolis, 06108 Nice cedex, France*

The spread of the introduced green seaweed *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea has progressed steadily since 1984. It constitutes a serious threat for marine biodiversity, ecodiversity and probably, in the long term, for some human activities.

Studies undertaken within the framework of different programs, funded at various levels (States, Regions, Communes, enterprises) besides the European Commission, today provide a basis for acquiring a reasonably good understanding of this recent phenomenon. Abundant scientific literature is now available, in the form of articles in scientific journals of all kinds, proceedings of symposia and scientific reports. In addition, several international workshops have already been held on the subject.

Despite the impressive present state of knowledge (compared with that of other marine invasive species), the profusion of lectures and posters presented at the present meeting shows that the research effort throughout the whole Mediterranean is still on the increase. This strong involvement of scientists in the *Caulerpa taxifolia* problem has certainly facilitated awareness and investigation of the westward spread of *Caulerpa racemosa* since the early 1990's. This workshop welcomes, besides the 3 sessions dedicated to *Caulerpa taxifolia*, a special session on *C. racemosa*. So we can have every confidence that, given the large number of countries represented at Lerici, extensive collaboration will continue to bear fruit.

Besides developing our understanding of the phenomenon and its consequences, the aims of the Life Program are to define tools allowing, if not the control, at least the slowing down of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean.

The presentation of various methods developed and tested under field conditions, together with rough and ready methods to control local-scale colonies or bio-control will certainly be followed with attention. Although it is, unfortunately, broadly accepted that the total eradication of the Mediterranean strain of *Caulerpa taxifolia* does not

appear to be a realistic objective, some of these methods will undoubtedly help to control small colonies discovered in sensitive sites.

It is clear, however, that the slowing down of the spread should now be considered in a much broader sense; in addition to control, resources should also be shared between monitoring, surveys and information operations leading to a preventive strategy.

It is a fact that the above-mentioned programmes have led in a few years to the setting up of a well-coordinated cartographical survey network (public awareness, validation of sightings, implementation of a GIS – Geographical Information System), and accurate monitoring of colonies. In addition, systematic scuba diving surveys have been carried out along the coasts of colonized countries.

At the same time, public awareness campaigns have continued to mobilize the coastal population of 7 Mediterranean countries. This public awareness has been considerably facilitated by the interest of the media, which, on the other hand, also appears to have caused some confusion among decision makers thus delaying the adoption of concrete measures.

In addition to the specific legislation regarding *Caulerpa taxifolia* adopted in France and in Spain and under international conventions, the recent “Heraklion Recommendations” initiated by the Mediterranean Action Plan (UNEP) – adopted unanimously by the all-scientist representatives of the Mediterranean countries – evidence the importance of preventing and combating this form of biological pollution. These measures give grounds for hope for further legislation (as in France), but we are still, if we except the Balearic Islands and Croatia, a long way from applying the *Precautionary principle* throughout the Mediterranean.

For these reasons, we think it is important to encourage the strong synergy developed around these international and regional programs. The scientists gathered here have sometimes - when helping the authorities to understand the impact or to work out a strategy -, played a key role not only as researchers, but also as citizens of the Mediterranean.

The spread of invasive *Caulerpa* species is of special concern throughout the Mediterranean regions. We hope that participants will take the opportunity of this 4th international workshop, the final meeting of the European Commission Life Program “Control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea”, to prepare, together, future actions for the effective control and understanding of the phenomenon. If this workshop may help to encourage some kind of continuation of the European Commission Life program, our objectives will have been achieved.

AN OVERVIEW OF THE PRESENT STATE OF KNOWLEDGE ON *CAULERPA TAXIFOLIA* IN THE MEDITERRANEAN SEA

Charles-François BOUDOURESQUE^{1,3}, Alexandre MEINESZ^{2,3} & Vincent GRAVEZ³

¹ Centre d'Océanologie de Marseille, UMR CNRS DIMAR 6540, Parc Scientifique & Technologique de Luminy, case 901, 13288 Marseille cedex 9, France

² Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice Sophia-Antipolis, 06108 Nice cedex, France

³ GIS Posidonie, Parc Scientifique & Technologique de Luminy, case 901, 13288 Marseille cedex 9, France

Caulerpa taxifolia, a green alga with a circumtropical distribution, has been used since the 1970s and early 1980s for natural display in European aquaria. It was observed for the first time in the Mediterranean Sea (Monaco, French Riviera) in the mid-1980s, and there is evidence that it had escaped from an aquarium. Morphological, ecological and physiological studies have demonstrated that the aquarium-Mediterranean strain of *C. taxifolia* differs from known tropical populations, exhibiting larger size, vigorous growth and resistance to low temperature. Spectacular progression of this alga was observed on the French and Italian Riviera, where the more or less colonized area extended to over 5 000 ha. Isolated colonies were also discovered in French Catalonia, Tuscany, Balearic Islands, Sicily and Croatia. Sexual reproduction of *C. taxifolia* remains unknown in the Mediterranean, where only male gametes have been observed. Its long distance spread probably results from dissemination of cuttings by pleasure boats and fishing nets. This is consistent with its ability to resist long periods of emersion (up to 10 days at 18 °C), when kept in darkness and at a high level of air humidity.

In the Mediterranean, *Caulerpa taxifolia* is able to invade most of the sublittoral environments, from sea-level down to 30 m depth: photophilic and sciaphilic communities, on rocky, sandy and muddy bottoms, in pristine and polluted waters (including harbours). It has in addition been collected down to 100 m depth. It is in competition with native benthic species. A decrease of species diversity and/or a conspicuous change in abundance of key-species has been evidenced for e.g. algae, seagrasses, fish parasites (Digenea), sea urchins, amphipods, polychaetes and fishes. Moreover, a strong impact on eco-diversity (diversity of communities) is apparent, with a consequent dramatic uniformisation of the underwater landscape. The competitive success of *C. taxifolia* has been attributed to a number of factors, such as a lack of severe nutrient limitation, heterotrophy, the production of toxic and/or repellent secondary metabolites, the trapping of fine sediment by the dense leaf cover and the time lag between its growing period and that of native macrophytes.

In addition to its ecological impact, the spread of *Caulerpa taxifolia* might have harmful economic consequences, in the field of scuba diving and fishery. The aquarium-Mediterranean strain of *C. taxifolia* can be purchased in many aquarium shops and is

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001: 3-4*

now present worldwide in a number of public and private aquaria. Given its potentially invasive character, it would appear that stricter control of its sale and possession is warranted.

THE SPECIES AND ITS ORIGIN

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

INQUIRY ON THE AQUARIUM CULTIVATION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* IN EUROPE BEFORE ITS INTRODUCTION INTO THE MEDITERRANEAN SEA

Ulrike MEYER^{1,2} & Alexandre MEINESZ²

¹ Centre for Ecosystem Research, University of Kiel, Schauenburgerstr. 112, D - 24118 Kiel, Germany

² Laboratoire Environnement Marin Littoral, Faculté des Sciences, Université de Nice -Sophia Antipolis, F - 06108 Nice Cedex 02, France

ABSTRACT

The tropical alga *Caulerpa taxifolia* was first observed in the Mediterranean Sea off Monaco in 1984. Recent molecular evidence confirms that the Mediterranean *C. taxifolia* originates from an aquarium strain accidentally introduced into the sea. Its origin was traced to the public aquarium of the Wilhelma Zoologisch-Botanischer Garten in Stuttgart (Germany) in the 1970s, whence individuals of the alga have been given to the public aquaria of Nancy (France) and Monaco. Items of proof such as dried samples, photographs, written descriptions and personal communications have been collected to document the cultivation of *C. taxifolia* in Dutch, Swiss and German aquaria since the 1960s. We invalidate several old descriptions of cultivated *C. taxifolia* confused with *C. sertularioides* or *C. mexicana*. The earliest observations date from 1962/63 in a Swiss aquarium after importation from Sri Lanka. The first evidence for an aquarium strain of *C. taxifolia* resistant to water temperatures of below 20° C dates from 1975. It was cultivated in a private German aquarium before individuals of this strain were given to the public aquarium of the Wilhelma in Stuttgart.

RÉSUMÉ

L'algue verte *Caulerpa taxifolia* a été observée en Méditerranée pour la première fois devant le littoral de Monaco en 1984. Des preuves génétiques ont confirmé que *C. taxifolia* de Méditerranée provient d'une souche d'aquarium accidentellement introduite en Méditerranée, dont l'origine a pu être suivie jusqu'à l'aquarium public de la Wilhelma Zoologisch-Botanischer Garten à Stuttgart (Allemagne) dans les années 1970. Des individus de l'algue provenant de cet aquarium ont été donnés par la suite aux aquariums publics de Nancy (France) et de Monaco. Des preuves (échantillons séchés, photos, descriptions écrites et communications personnelles) ont été recueillies ; elles montrent que *C. taxifolia* a été cultivée dans des aquariums hollandais, suisses et allemands depuis les années 1960. Plusieurs descriptions anciennes de *C. taxifolia* cultivée en aquarium ont été invalidées : l'algue a souvent été confondue avec *C. sertularioides* ou *C. mexicana*. La première référence d'une culture de *C. taxifolia* date de 1962 / 1963 ; l'algue, provenant du Sri Lanka avait été importée dans un aquarium Suisse. La première preuve d'une souche cultivée en aquarium résistante à des températures inférieures à 20° C a été observée en 1975 dans un aquarium allemand par un aquariologiste amateur. Ce sont des individus de cette souche qui furent donnés à l'Aquarium public de Wilhelma à Stuttgart.

INTRODUCTION

The tropical green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh has a circumtropical distribution and can be found in the Red Sea as well as in the temperate waters of the Atlantic, the Pacific and the Indian Ocean. In 1984, it was first observed in the Mediterranean Sea off the coast of Monaco below the Oceanographic Museum of Monaco, forming a colony of 1 m² (MEINESZ & HESSE, 1991). At that time, specimens of this alga were cultivated in the public aquarium of the Oceanographic Museum. The origin of the Mediterranean *C. taxifolia* in Europe was traced to the public aquarium of the Wilhelma Zoologisch-Botanischer Garten of Stuttgart (Germany), which received samples of *C. taxifolia* and started its cultivation in a tropical aquarium in the 1970s (MEINESZ & BOUDOURESQUE, 1996). Unfortunately, the Wilhelma does not have records for the arrival of plants at that time.

Individuals of the tropical alga were then given by the Wilhelma in Stuttgart to the public aquarium of Nancy (France) and to the Aquarium of the Institut Océanographique of Paris (France). The alga then came to the Oceanographic Museum of Monaco (France) in 1983 / 84 (MEINESZ *et al.*, 1995a).

The introduced Mediterranean form of *C. taxifolia* has particular characteristics differing from those of tropical *C. taxifolia* individuals, i.e. resistance to water temperatures below 20° C with 3 months' survival at 10° C (KOMATSU *et al.*, 1997), vigor, strong growth and large size of the thallus (MEINESZ *et al.*, 1995b). JOUSSON *et al.* (1998) have shown the genetic similarity between the introduced *C. taxifolia* and the strain cultivated in private and public aquaria during the last 20 years in Europe.

It would now be interesting to know more about the origin in the tropics of the European aquarium strain of *C. taxifolia* and in which region of Europe *C. taxifolia* was cultivated in private or public aquaria before arriving in the public aquarium of Stuttgart in the 1970s (and finally in the Mediterranean Sea).

Temperature resistance is one of the striking characteristics in which the Mediterranean *C. taxifolia* differs from the tropical form of this species. We assume that there has been a selection of a strain resistant to water temperatures below 20° C during the period of aquarium cultivation of the alga. Furthermore, we sought to determine from what stage imported individuals of *C. taxifolia* showed the characteristics of the recent Mediterranean strain.

MATERIAL AND METHODS

For our inquiry, several articles were published in German and Dutch aquarist magazines (MEYER, 1998a; 1998b; 1998c; 1998d). In these articles, we asked for information on cultivation of *C. taxifolia* in public and private aquaria, especially before 1984. We also contacted aquarium-traders as well as aquarists and authors of articles in aquarist magazines. We obtained information by personal communications, written descriptions, drawings, photographs or even dated dried samples for proof of the

cultivation of *C. taxifolia* in aquaria and on its origin from tropical waters before it arrived in Europe.

In some old descriptions on cultivated *C. taxifolia* some misidentifications occurred: the species was confused with other *Caulerpa* species: *C. sertularioides* and *C. mexicana*.

RESULTS

The earliest reference for cultivation of *C. taxifolia* in a European aquarium refers to a private aquarium in Geneva (Switzerland) in 1962 / 63 (pers. comm. HANSBERG). The origin of the specimen was Sri Lanka indicated by the aquarium trader (pers. comm. PULTAU). The date can be confirmed by a contact of that time, when the aquarist was taking care of the aquarium of the House of Rothschild in Geneva. These individuals did not resist water temperatures of below 20° C.

The next reference shows the cultivation of *C. taxifolia* in a private aquarium in Linz / Rhein (Germany) for the end of the 1960s. As proofs we obtained dried samples of *C. taxifolia* dated 1969 and 1975 (pers. comm. BIRKHOLZ). These individuals came from a German aquarium trader importing living tropical organisms mostly from the Indian Ocean / Indonesia or the Pacific Ocean / Philippines. After the dysfunctioning of the aquarium heating apparatus, the aquarist observed that *C. taxifolia* withstood water temperatures of 15–17° C and did not show any sign of decline. In 1969 / 70, the aquarist gave samples to other aquarists for private and public aquaria, mainly to the Wilhelma Zoologisch-Botanischer Garten in Stuttgart (Germany), but also to the public aquaria of Frankfurt, Munich and Berlin (Germany).

Another reference for the aquarium cultivation of *C. taxifolia* in 1969 comes from a private aquarium owner in Berlin (Germany), who obtained individuals of the alga from an aquarium trader in Berlin (pers. comm. BERGMANN). The origin in the tropics of this *C. taxifolia* strain can no longer be identified. Proofs were photographs dated 1975. This aquarist reports that individuals of the alga in the private aquarium also withstood a drop in water temperature to below 20° C occurring in his aquarium around 1975-1980.

In addition, we obtained indications of the cultivation of *C. taxifolia* in a private Dutch aquarium since 1977 (pers. comm. VAN MIL). As proof, we received photographs of *C. taxifolia* dated 1977-1979. The samples originated from a private aquarist in Den Haag (Netherlands) (pers. comm. BERSERIK) who obtained individuals of the alga through exchange of *Caulerpa*-species between aquarists and from a trader in Singapore. This date is confirmed by descriptions of *C. taxifolia* cultivation in several other aquaria in Den Haag, published in aquarium magazines and illustrated by drawings (AMIR, 1977; 1981).

We obtained further indications of the cultivation of *C. taxifolia* in a Swiss aquarium in the early 1980s (pers. comm. MEIER). The samples came from the German aquarium strain of *C. taxifolia* of J. BIRKHOLZ, mentioned above. As proof we obtained photographs of the cultivated *C. taxifolia* dated 1982.

After exchange of *C. taxifolia* individuals between traders and public aquaria during the 1970s and the early 1980s, *C. taxifolia* was finally introduced to the Mediterranean Sea and first observed off the coast of Monaco by D. BEZARD and M. LAFAURIE (MEINESZ *et al.*, 1995a). In the late 1970s and the 1980s, many articles on the aquarium cultivation of *C. taxifolia* were published in aquarist magazines (AMIR, 1979a ; 1979b ; 1981 ; ARTAUT, 1987; TOMEY, 1989) or scientific journals (MENZEL, 1987; 1989).

CONCLUSIONS

If our inquiry shows clearly that the first evidence of cultivation of a temperature resistant strain of *C. taxifolia* dates from 1969, the collected indications on the origin of this cultivated strain of *C. taxifolia* are not precise. Genetic analyses on the aquarium strain of *C. taxifolia* coming from German, Swiss and also Japanese aquaria show that it originates from the same strain (the same as the Mediterranean *C. taxifolia*) (JOUSSON *et al.*, 1998). This aquarium-Mediterranean strain is different from native *C. taxifolia* gathered from the Atlantic Ocean (Martinique) or the Pacific Ocean (Southern Japan and Northern Australia) (JOUSSON *et al.*, 1998; OLSEN *et al.*, 1998). Further investigations are necessary to obtain precise information on the region of origin of the invading *C. taxifolia* strain.

Many private and public aquaria in Europe and in other parts of the world (United States, Canada, Australia, South Africa and Japan) have been cultivating *C. taxifolia* since the 1980s. An eventual invasion of this species in other seas due to its accidental release or intentional discharge, like in the Mediterranean Sea, should be prevented to avoid the risk of an impact similar to that observed in the Mediterranean Sea.

Acknowledgments: We are very grateful to the numerous aquarists who provided us with documents and information on the aquarium cultivation of *C. taxifolia* and without whom this study would not have been possible: Anton P. AMIR, Wolphaartsdijk (NL); Ulrich BERGMANN, Berlin (D); Paul BERSERIK, Den Haag (NL); Johannes BIRKHOLZ, Linz/Rhein (D); Joachim FRISCHE, Penzberg (D); Horst HANSBERG, Geneva (CH); Rolf HEBBINGHAUS, Düsseldorf (D); Daniel KNOP, Sinsheim (D); Daniel MEIER, Bern (CH); Joseph PULTAU, Villars-Ste-Croix (CH) ; Rita REBER, Gelsenkirchen (D) ; Helmut SCHMIDT, Lünen (D) ; Rainer STAWIKOWSKI, Gelsenkirchen (D) ; W.A. TOMEY (NL) ; H.G.M. VAN MIL, Wateringen (NL) ; A.M.H. WISSELAAR, Vroomshoop (NL).

REFERENCES

- AMIR A.P., 1977. In: *De Kor*, Netherlands : 143-145.
- AMIR A.P., 1979a. Over wieren gesproken. *Het Zee-Aquarium*, Netherlands, 29 (9) : 14-15.

- AMIR A.P., 1979b. Schouwburg der dieren en wieren microscopisch gezien. Nederlandse Bond van Zee-aquariumverenigingen (eds.), Netherlands : 80 pp.
- AMIR A.P., 1981. Over wieren gesproken. *Het ZeeAquarium*, Netherlands, 31 (6) : 18-19.
- ARTAUT J., 1987. Dites-le avec des algues. *Aquarium Magazine*, France, 26 : 39-42.
- JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.-F., 1998. Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, Germany, 172 : 275-280.
- KOMATSU T., MEINESZ A., BUCKLES D., 1997. Temperature and light responses of alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, Germany, 146 : 145-153.
- MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1996. Sur l'origine de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *C. R. Acad. Sci.*, France, 319 : 603-613.
- MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Océanologica Acta*, France, 14 (4) : 415-426.
- MEINESZ A., VAUGELAS J. de, COTTALORDA J.-M., CAYE G., CHARRIER S., COMMEAU T., DELAHAYE L., FEBVRE M., JAFFRENOU F., LEMÉE R., MOLENAAR H., PIETKIEWICZ D., 1995a. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes de la Méditerranée: situation au 31 décembre 1994. *Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis (publ.)*, France : 121 pp.
- MEINESZ A., BENICHOUL L., BLACHIER J., KOMATSU T., LEMÉE R., MOLENAAR H., MARI X., 1995b. Variation in the structure, morphology and biomass of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea. *Bot. Mar.*, Germany, 38 : 499-508.
- MENZEL D., 1987. The Cytoskeleton of the Giant Coenocytic Green alga *Caulerpa taxifolia* visualised by immunocytochemistry. *Protoplasma*, Germany, 139 : 71-76.
- MENZEL D., 1989. Actin-based chloroplast rearrangements in the cortex of the giant coenocytic green alga *Caulerpa*. *Protoplasma*, Germany, 150 : 1-8.
- MEYER U., 1998a. Seit wann wird *Caulerpa taxifolia* in Meeresaquarien verwendet? *DATZ – Aquarien Terrarien*, Germany, 6 (51) : 401.
- MEYER U., 1998b. Gezocht: *Caulerpa taxifolia*. *Het ZeeAquarium*, Netherlands, 5 (48) : 132-133.
- MEYER U., 1998c. Seit wann wird die tropische Grünalge *Caulerpa taxifolia* in Salzwasseraquarien zur Dekoration verwendet? *Aquaristik aktuell*, Germany, 5-6 (5) : 12.
- MEYER U., 1998d. *Caulerpa taxifolia* – die schöne Fremde im Mittelmeer. *DATZ – Aquarien Terrarien*, Germany, 10 (51) : 639-641.
- OLSEN J., VALERO M., MEUSNIER I., BOELE-BOS S., STAM W. Y., 1998. Mediterranean *Caulerpa taxifolia* and *C. mexicana* (Chlorophyta) are not conspecific. *J. Phycol.*, USA, 34 : 850-856.
- TOMEY W.A., 1989. *Caulerpa*: het geslacht *Caulerpa* in het zee-aquarium. Nederlandse Bond van Zeeaquariumverenigingen, *Het Zee-Aquarium*, Netherlands, 39 : 58 pp.

INTRA-INDIVIDUAL GENETIC POLYMORPHISM IN *CAULERPA TAXIFOLIA* POPULATIONS AND RELATED *CAULERPA* SPECIES

Olivier JOUSSON^{1,2}, Jan PAWLOWSKI^{1,3}, Louissette ZANINETTI¹, Alexandre MEINESZ⁴ & Charles François BOUDOURESQUE²

¹ Département de Zoologie et Biologie animale, Université de Genève, 1224 Chêne-Bougeries/Genève, Switzerland

² Centre d'Océanologie de Marseille, UMR CNRS 6540, 13288 Marseille, France

³ Muséum d'Histoire Naturelle, 1211 Genève 6, Switzerland

⁴ Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, Parc Valrose, 06108 Nice Cedex 2, France

ABSTRACT

Here, we present the first study about intra-individual genetic polymorphism in *Caulerpa taxifolia* populations and related *Caulerpa* species, using the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of ribosomal DNA. We sequenced between two and four clones for each individual analysed. The amount of intra-individual ITS polymorphism showed significant differences between the species and populations we studied. The most polymorphic species we analysed is *C. racemosa*, for which the divergence between different ITS copies reaches 5.3 %. For the other species, the amount of ITS polymorphism lies between 1 and 2 %. Surprisingly, the different populations of *C. taxifolia* we analysed showed different levels of ITS polymorphism, from 0 % in the Aquarium-Mediterranean strain to 1.3 % in the Caribbean strains. The possible influence of aquaculture on the degree of ITS polymorphism is discussed.

RÉSUMÉ

Nous présentons ici, la première étude concernant le polymorphisme génétique intra-individuel dans les populations de *Caulerpa taxifolia* et de différentes autres espèces de *Caulerpa*, en utilisant la région ITS de l'ADN ribosomal. Nous avons séquencé entre 2 et 4 clones pour chaque individus analysé. La quantité de polymorphisme intra-individuel des ITS montre des différences significatives entre les espèces et les populations étudiées. L'espèce la plus polymorphique est *Caulerpa racemosa*, pour qui la divergence entre les différentes copies des ITS atteint 5.3 %. Pour les autres espèces, le polymorphisme des ITS varie entre 1 et 2 %. De manière surprenante, les différentes populations de *Caulerpa taxifolia* que nous avons étudié montre des taux de polymorphisme des ITS différents, de 0 % pour les souches des aquariums Méditerranéens à 1.3 % pour les souches des Caraïbes. L'influence de la culture en aquarium sur le polymorphisme des ITS est discutée.

INTRODUCTION

The genus *Caulerpa* (Ulvophyceae) comprises about 70 species ubiquitous in coastal marine environment. One of these species, *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, is common in tropical seas and was first recorded in the Mediterranean in 1984 (MEINESZ & HESSE, 1991). Since then, the species has rapidly spread in the

Northwestern Mediterranean, invading most of the sublittoral environments and competing with native benthic species (VILLELE & VERLAQUE, 1995; BELLAN-SANTINI *et al.*, 1996). Spectacular progression of this alga was observed on the French and Italian Rivas, where the affected areas increased from 3 ha in 1990 to 3000 ha in 1996 (MEINESZ *et al.*, 1997). Isolated colonies were also discovered in French Catalonia (1991), Tuscany, the Balearic Islands (1992), Sicily (1993), and Croatia (1994) (MEINESZ & BOUDOURESQUE, 1996) possibly resulting from vegetative dissemination by pleasure boats and/or fishing nets (SANT *et al.*, 1996). Morphological, ecological and physiological studies have demonstrated that the Mediterranean *C. taxifolia* differs from known tropical populations by presenting a larger size, vigorous growth and resistance to low temperatures (MEINESZ *et al.*, 1995; KOMATSU *et al.*, 1997). Its competitive success has also been attributed to a number of other factors such as a lack of severe nutrient limitation, heterotrophy, and the production of toxic and/or repellent secondary metabolites (GUERRIERO *et al.*, 1993; BOUDOURESQUE *et al.*, 1996; CHISHOLM *et al.*, 1996; DELGADO *et al.*, 1996; CHISHOLM & JAUBERT, 1997). It has been recently demonstrated that the Mediterranean *C. taxifolia* and the strain cultivated in European aquaria were genetically identical (JOUSSON *et al.*, 1998).

In order to test the amount of intra-individual genetic polymorphism in tropical and Mediterranean *C. taxifolia*, as well as in related *Caulerpa* species, we have sequenced several clones of ribosomal DNA for each specimen. The Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA was chosen in this study as an appropriate marker to distinguish species among Ulvophyceae (BAKKER *et al.*, 1995; LESKINEN & PAMILO, 1997) and to examine the intraspecific variations in *Caulerpa* (PILLMAN *et al.*, 1997).

MATERIAL AND METHODS

DNA extraction, PCR amplification, Cloning and Sequencing

Living specimens of a Mediterranean population, an aquarium isolate, and 3 tropical populations of *Caulerpa taxifolia* were isolated, together with specimens belonging to four other *Caulerpa* species (*C. mexicana* Sonder ex Kützing, *C. prolifera* (Forsskål) Lamouroux, *C. racemosa* (Forsskål) J. Agardh and *C. sertularioides* (Gmelin) Howe) (tab. I). DNA was extracted in guanidine lysis buffer, precipitated with isopropanol and dissolved in distilled water. PCR amplifications were performed in a total volume of 50 µl with an amplification profile consisting of 40 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at 52 °C and 120 s at 72 °C, followed by 5 min at 72 °C for final extension. The ITS rDNA region was amplified using a *Caulerpa*-specific primer localized near the 3' end of the 18S rDNA (5'-CCTCTGAACCTTCGGGAG-3') and a universal primer localized near the 5' end of the 28S rDNA (5'-TTCACCTCGCCATTACT-3'). Amplified PCR products were purified using the High Pure PCR Purification Kit (Boehringer), ligated in the p-GEM-T Vector (Promega), cloned in the XL-2 Ultracompetent Cells (Stratagene) and sequenced using the ABI 377 automatic sequencer (Perkin Elmer).

Sequence analysis

The sequences were manually aligned using the GDE 2.2. (LARSEN *et al.*, 1993) and analysed using the following methods: the neighbor-joining (NJ) method (SAITOU & NEI, 1987) applied to distances corrected for multiple hits, and for unequal transition and transversion rates using KIMURA's two-parameter model (KIMURA, 1980), the maximum parsimony (MP) method, using heuristic search with the branch swapping option included in PAUP 3.1.1 (SWOFFORD, 1993) and the maximum likelihood (ML) method with a transitions / transversions ratio of 2, as implemented in the fast DNAmI program (OLSEN *et al.*, 1994). The reliability of internal branches in the NJ and MP trees was assessed using the bootstrap method (FELSENSTEIN, 1988). The Phylo-win program (GALTIER & GOUY, 1996) was used for distance computations, NJ and ML tree building and bootstrapping.

RESULTS

The aligned data set of ITS1, 5.8S and ITS2 rDNA consisted of 665 sites, including 86 variable and 48 parsimony informative positions. The phylogenetic analysis of *Caulerpa* ITS sequences using different phylogenetic methods generated similar results (fig. 1). The *Caulerpa taxifolia* populations form a monophyletic clade, as a sister group to *C. sertularioides*. The divergence between the different clones sequenced within an individual depends on the species. It ranges up to 5.3 % in *C. racemosa* (31 nucleotide substitutions), 1.7 % in *C. mexicana* (10 subst.), 1.9 % in *C. prolifera* (11 subst.), and 1 % in *C. sertularioides* (6 subst.). In *C. taxifolia*, the degree of ITS polymorphism depends on the specimens analysed: it ranges up to 1.2 % in the Japanese isolate (7 subst.), 1.3 % in the Caribbean isolates (8 subst.) and 0 % in the aquarium and Mediterranean isolates (0 subst.). In *C. mexicana* and in *C. sertularioides*, it can be noted that the level of intra-individual ITS polymorphism exceeds the variation observed between populations (fig.1), indicating that the ITS is not a suitable marker of populations genetics for these species. In *C. taxifolia*, however, the divergence between the different populations analysed (Japanese, Caribbean, and Mediterranean) is significantly higher than the amount of intra-individual ITS polymorphism.

Table I. Analysed material: species, geographical origin, and number of clones sequenced within an individual.

Specimen number	Species	Locality	N° of clones sequenced
1	<i>C. taxifolia</i>	Le Brus, France	3
2	<i>C. taxifolia</i>	Stuttgart aquarium, Germany	3
3	<i>C. taxifolia</i>	Martinique I., Caribbean	3
4	<i>C. taxifolia</i>	Guadeloupe I., Caribbean	3
5	<i>C. taxifolia</i>	Ryu-Kyu I., Japan	4
6	<i>C. sertularioides</i>	Martinique I., Caribbean	2
7	<i>C. sertularioides</i>	Seychelles I., Indian Ocean	2
8	<i>C. prolifera</i>	Martinique I., Caribbean	2
9	<i>C. mexicana</i>	Stot-Yam, Israel, Mediterranean	2
10	<i>C. mexicana</i>	Martinique I., Caribbean	2
11	<i>C. racemosa</i>	Marseille, France	3

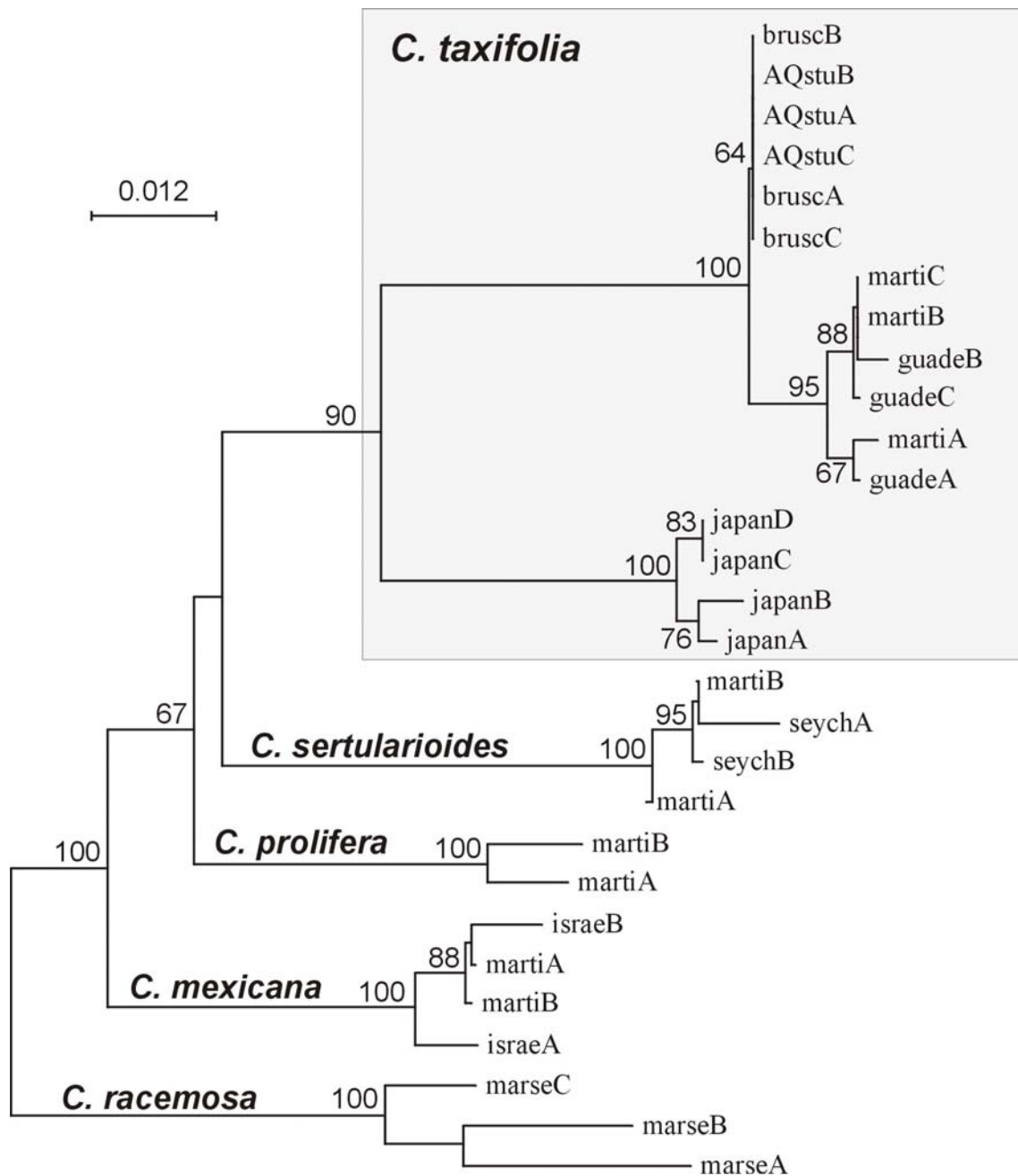


Figure 1. Neighbor-Joining tree (pairwise gap removal option) of *Caulerpa* spp. inferred from complete ITS rDNA sequences. The bootstrap values higher than 60% are indicated (500 replicates). The same tree topology was obtained using Maximum Likelihood and Maximum parsimony phylogenetic methods. Localities: brus: Le Brus, France; AQstu: Aquarium of Stuttgart, Germany; Marti: Martinique Island, Caribbean; guade: Guadeloupe Island, Caribbean; japan: Ryu-Kyu Island, Japan; seych: Seychelles Islands, Indian Ocean; israe: Stot-Yam, Israel; marse: Marseille, France. Different clones sequenced within an individual are indicated in capital letters.

DISCUSSION

This study is about the use of ITS rDNA sequences to test the amount of intra-individual genetic polymorphism in the genus *Caulerpa*. Our data revealed significant differences in the degree of ITS polymorphism, depending on the species and, for *Caulerpa taxifolia*, even on the populations. Thus, besides its unusual morphological (MEINESZ *et al.*, 1995) and physiological (KOMATSU *et al.*, 1997; CHISHOLM *et al.*, 1996) characteristics, the Mediterranean and aquarium *C. taxifolia* showed no ITS polymorphism, a surprising feature given the presence of polymorphism in the other *C. taxifolia* populations we studied. As molecular data strongly suggested that the Mediterranean *C. taxifolia* originated from an aquarium cultivated strain (JOUSSON *et al.*, 1998), we hypothesize that the isolation of stocks comprising few individuals under aquarium conditions could have favoured the homogenization of aquarium *C. taxifolia* ITS rDNA copies. This is in agreement with the observed loss of genetic heterogeneity in laboratory stocks (LINARES *et al.*, 1994). The sequence-homogenization mechanisms of multigenic families, referred to as concerted evolution, have been observed both in sexual (SCHLOTTERER & TAUTZ, 1994) and in parthenogenetic lineages (HILLIS *et al.*, 1991). Thus, the fact that the Mediterranean *C. taxifolia* reproduces asexually only (MEINESZ & BOUDOURESQUE, 1996) does not constitute a definitive argument to explain the absence of ITS polymorphism within this strain.

Acknowledgments: This study was supported by the European Community (Life-DGXI), the French Ministère de l'Environnement and the Swiss National Science Foundation.

REFERENCES

- BAKKER F.T., OLSEN J.L., STAM, W.T., 1995. Evolution of nuclear rDNA ITS sequences in the *Cladophora albida / sericea* clade. *J. Mol. Evol.* 40 (6) : 640-651.
- BELLAN-SANTINI D., ARNAUD P.M., BELLAN G., VERLAQUE M., 1996. The influence of the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia*, on the biodiversity of the Mediterranean marine biota. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 76 : 235-237.
- BOUDOURESQUE C.F., LEMEE R., MARI X., MEINESZ A., 1996. The invasive alga *Caulerpa taxifolia* is not a suitable diet for the sea-urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquatic Botany* 53 : 245-250.
- CHISHOLM J.R.M., JAUBERT J.M., 1997. Photoautotrophic metabolism of *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the NW Mediterranean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 153 : 113-123.
- CHISHOLM J.R.M., DAUGA C., AGERON E., GRIMONT P.A.D., JAUBERT J.M., 1996. "Roots" in mixotrophic algae. *Nature* 381 : 382.
- DELGADO O., RODRIGUEZ-PRIETO C., GACIA E., BALLESTEROS E., 1996. Lack of severe nutrient limitation in *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, an introduced seaweed spreading over the oligotrophic northwestern Mediterranean. *Botanica marina* 39 : 61-67.
- FELESENSTEIN J., 1988. Phylogenies from molecular sequences : inference and reliability. *Annual Review of Genetics* 22 : 521-565.

GALTIER N., GOUY M., 1996. SEAVIEW and PHYLO_WIN : two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Computer Applications in the Biosciences* 12 : 543-548.

GUERRIERO A., MARCHETTI F., D'AMBROSIO M., SENESI S., DINI F., PIETRA F., 1993. New ecotoxicologically and biogenetically relevant terpenes of the tropical green alga *Caulerpa taxifolia* which is invading the Mediterranean. *Helvetica Chimica Acta* 76 : 855-864.

HILLIS D.M., MORITZ C., PORTER C.A., BAKKER R.J., 1991. Evidence for biased gene conversion in concerted evolution of ribosomal DNA. *Science* 251 : 308-310.

JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1998. Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 172 : 275-280.

KIMURA M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16 : 111-120.

KOMATSU T., MEINESZ A., BUCKLES D., 1997. Temperature and light responses of alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 146 : 145-153.

LARSEN N., OSEN G.J., MAIDAK B.L., MC CAUGHEY M.J., OVERBEEK R., MACKE T.J., MARSH T.L., WOESE C.R., 1993. The ribosomal database project. *Nucleic Acids Research* 21 : 3021-3023.

LESKINEN E., PAMILO P., 1997. Evolution of the ITS sequences of ribosomal DNA in *Enteromorpha* (Chlorophyceae). *Hereditas* 126 (1) : 17-23.

LINARES A.R., BOWEN T., DOVER G.A., 1994. Aspects of nonrandom turnover involved in the concerted evolution of intergenic spacers within the ribosomal DNA of *Drosophila melanogaster*. *J. Mol. Evol.* 39 (2) : 151-159.

MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1996. Sur l'origine de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Life Sciences* 319 : 603-613.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta* 14 (4) : 415-426.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'expansion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : situation au 31 décembre 1996. *Laboratoire Environnement marin Littoral*, Université de Nice Sophia-Antipolis Publ., France : 189 pp.

MEINESZ A., BENICHOUL., BLACHIER J., KOMATSU T., LEMÉE R., MOLENAAR H., MARI X., 1995. Variations in the structure, morphology and biomass of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea. *Botanica marina* 38 : 499-508.

OLSEN G.J., MATSUDA H., HAGSTROM R., OVERBEEK R., 1994. Fast DNAm1 : a tool for construction of phylogenetics trees of DNA sequences using maximum likelihood. *Computer Applications in the Biosciences* 10 : 41-48.

PILLMAN A., WOOLCOTT G.W., OLSEN J.L., STAM W.T., KING J.R., 1997. Inter- and intraspecific genetic variations in *Caulerpa* (Chlorophyta) based on nuclear rDNA ITS sequences. *Europ. J. Phycol.* 32 : 379-386.

SAITOU N., NEI M., 1987. The Neighbor-Joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4 : 406-425.

SANT N., DELGADO O., RODRIGUEZ-PRIETO C., BALLESTEROS E., 1996. The spreading of the introduced seaweed *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Mediterranean Sea : testing the boat transportation hypothesis. *Botanica marina* 39 : 427-430.

SCHLOTTERER C., TAUTZ D., 1994. Chromosomal homogeneity of *Drosophila* ribosomal DNA arrays suggests intrachromosomal exchanges drive concerted evolution. *Current Biology* 4 (9) : 777-783.

SWOFFORD D.L., 1993. PAUP : phylogenetic analysis using parsimony, version 3.1 Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Botanica Marina* 38 : 79-87.

PRELIMINARY STUDY ON ENZYME POLYMORPHISM OF *CAULERPA TAXIFOLIA* FROM THE MEDITERRANEAN AND OF OTHER ORIGINS

Gilberte CAYE¹, Michel SANDMEIER², Cyril MICHAULT¹, Thomas PILLEN³ & Alexandre MEINESZ¹

¹ Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, 06108 Nice cedex 2, France

² Laboratoire d'Ecologie systématique et Evolution, Bâtiment 362, CNRS, UPRESSA 8079, Université Paris-sud, 91405 Orsay Cedex, France

³ Research Station Fetovaia, Hydra-Institut für Meereswissenschaften, 57034 Marina di Campo, Elba, Italy, and Department of Zoology, University of Queensland, 4072 St. Lucia, Qld, Australia

ABSTRACT

Enzyme polymorphism was used to investigate the genetic diversity and the origin of the invasive *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean. Ten enzymatic systems were found to be useful for this study: aspartate amino-transferase (AAT), diaphorase (DIA), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), malic enzyme (ME), mannose-6-phosphate isomerase (MPI), phosphoglucomutase (PGM), phosphogluconate dehydrogenase (PGD), schikimic dehydrogenase (SKDH), superoxide dismutase (SOD). *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean was compared with *C. taxifolia* from the Caribbean Islands (Antilles) and from the east of Australia (Moreton Bay). *C. taxifolia* from the Mediterranean was monomorphic in eight enzymes, showing only one isozyme at each locus and showing no activity for ME and SOD. Allelic differences were detected between *C. taxifolia* from the Mediterranean and the Caribbean strain in the loci of three enzymes (MDH, PGD and PGM), but only in the locus of one enzyme (PGM) between the former strain and the Australian one. Thus, *C. taxifolia* from the Mediterranean seems to be more closely related to the Australian than to the Caribbean strain. These preliminary results show that enzymatic polymorphism can be suitable to investigate the genome of *C. taxifolia* from the Mediterranean and its relationship with other origins of this species.

RÉSUMÉ

Le polymorphisme enzymatique a été utilisé pour étudier la diversité génétique et les origines de *Caulerpa taxifolia*, algue invasive en Méditerranée. Dix systèmes enzymatiques ont été retenus pour cette étude : aspartate amino-transférase (AAT), diaphorase (DIA), leucine aminopeptidase (LAP), malate déhydrogénase (MDH), malico-enzyme (ME), mannose-6-phosphate-isomérase (MPI), phosphoglucomutase (PGM), phosphogluconate-déhydrogénase (PGD), schikimic-déhydrogénase (SKDH), superoxide-dismutase (SOD). *Caulerpa taxifolia* de Méditerranée a été comparée à des souches de même espèce provenant des Caraïbes (Antilles) et de l'Est de l'Australie (Moreton Bay). *C. taxifolia* de Méditerranée s'est révélée monomorphique dans 8 systèmes enzymatiques, avec seulement un isozyme à chaque locus, et sans activité pour ME et SOD. Des différences alléliques ont été trouvées entre *C. taxifolia* de Méditerranée et des Caraïbes pour les loci de trois enzymes (MDH, PGD et PGM), mais entre la souche méditerranéenne et l'australienne, une seule différence allélique a été détectée dans le locus de PGM. Ainsi, *C. taxifolia* de Méditerranée paraît plus proche de la souche australienne

que de la souche des Caraïbes. Ces résultats préliminaires montrent que le polymorphisme enzymatique peut être utilisé efficacement pour étudier la structure génétique de *C. taxifolia* et rechercher ses origines.

INTRODUCTION

Enzyme polymorphism allows investigation of the genetic structure in plants and populations (SOLTIS & SOLTIS, 1989) and genetic similarities between species of algae (SOSA & GARCIA-REINA, 1992). The aim of this study is to investigate the genetic diversity and the origin of the invasive *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Mediterranean Sea.

Electrophoretic enzyme analysis was used by our laboratory (CAPIOMONT *et al.*, 1996) for *Posidonia oceanica* (L.) Delile and by BALLMENT *et al.* (1996), BENZIE *et al.* (1997) for the green alga *Caulerpa*. Ten enzymes systems were found to be useful for this study: aspartate amino-transferase (AAT), diaphorase (DIA), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), malic enzyme (ME), mannose-6-phosphate isomerase (MPI), phosphoglucomutase (PGM), phosphogluconate dehydrogenase (PGD), schikimic dehydrogenase (SKDH), superoxide dismutase (SOD).

Enzymatic polymorphism was analysed within the population of *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean and it was compared with *C. taxifolia* from the Caribbean Islands (French Martinique islands) and from the Eastern Australia (Moreton Bay).

RESULTS

In *Caulerpa taxifolia*, we obtained only one locus for each enzymatic system, except for MDH which presented three loci. *C. taxifolia* from the Mediterranean was found to be monomorphic in eight enzymes, showing only one isozyme at each locus and showing no activity for ME and SOD.

Four samples of *C. taxifolia* collected in the Mediterranean along the coasts of France, at Saint-Cyprien, Toulon, Le Lavandou and Porquerolles islands, have revealed the same isozymes for DIA and MDH. Differences in isozymes occurred between the strains from the Mediterranean, from the Caribbean and from Australia (tab. I). For example, for PGM, isozymes were different for the three origins, for PGD the same isozyme appeared for the Mediterranean and the Australian strains, but the isozyme was different for the Caribbean strain. For MPI, we did not obtain activity for the Caribbean strain, but the isozyme was the same for both the other strains. For SOD and ME, activity occurred only for the Australian strain. For the first locus of MDH, the isozyme was the same for the three origins, the second locus was not obtained for the Caribbean strain and was the same for both the other strains, the third locus was not obtained for the Mediterranean strain and seemed a little different for the Australian and the Caribbean strains.

Table I. Differences and similarities in isozymes between *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean, from the Caribbean and from Australia.

	enzymes	loci
Differences between the Mediterranean strain and :		
- Caribbean strain	PGM PGD MDH	1 1 1
- Australian strain	PGM	1
Similarities between the Mediterranean strain and :		
- Caribbean strain	MDH	1
- Australian strain	PGD MDH MPI	1 2 1

CONCLUSION

Monomorphism found in isozymes of *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean has shown that its genetic structure seems homozygous, and thus that alga is not an allopolyploid and its vigor is not an heterosis effect. The large nuclei observed in the cytoplasm of this alga (CARVAHLO *et al.*, 1998) were probably autopolyploid by multiplication of the haploid stock of chromosomes.

Monomorphism also found between different samples of *C. taxifolia* within the Mediterranean population supports the results of the comparison of sequences of ADNr ITS which revealed the presence of a striking similarity between 10 samples of *C. taxifolia* collected around the Mediterranean (JOUSSON *et al.*, 1998). Enzymatic polymorphism was found between the Mediterranean, the Caribbean and the Australian strains, but the Mediterranean strain appeared to be closely related to the Australian than to the Caribbean strain.

Acknowledgements: This study was financially supported by DIREN-PACA through a GIS Posidonie contract.

REFERENCES

BALLMENT E., PRICE I., BENZIE J., 1996. Techniques for enzyme electrophoretic analysis of the green alga, *Caulerpa*. *Aims report 25*, publ. of Australian Institute of Marine Science, Townsville, Australia : 57 pp.

BENZIE J.A.H, PRICE I.R., BALLMENT E., 1997. Population genetics and taxonomy of *Caulerpa* (Chlorophyta) from the Great Barrier Reef Australia. *J. Phycol.* 33 : 491-504.

CAPIOMONT A., SANDMEIER M., CAYE G., MEINESZ A., 1996. Enzyme polymorphism in *Posidonia oceanica*, a seagrass endemic to the Mediterranean. *Aquatic Botany* 54 : 265-277.

CARVALHO N., LIDDLE L., CAYE G., MEINESZ A., 1998. Current knowledge on the biological cycle of the genus *Caulerpa* and karyological studies on *Caulerpa taxifolia*. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. edit., GIS Posidonie publ., France : 127-132.

JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1998. Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 172 : 275-280.

SOSA P.A., GARCIA-REINA G., 1992. Genetic variability and differentiation of sporophytes and gametophytes in population of *Gelidium arbuscula* (Gelidiaceae : Rhodophyta) determined by isozyme electrophoresis. *Mar. Biol.* 113 : 679-688.

SOLTIS D.E., SOLTIS P.S., 1989. Isozymes in plant biology. *Ed. Chapman and Hall* : 270 pp.

INSIGHTS INTO THE BASIS OF VARIATION AMONG POPULATIONS OF *CAULERPA TAXIFOLIA*

Monica PIGHINI¹ & Fernando DINI²

¹ Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, Sezione di Genetica, Università di Pisa, 56124 Pisa, Italy

² Dipartimento di Etologia, Ecologia ed Evoluzione, Divisione di Protistologia, Università di Pisa, 56126 Pisa, Italy.

ABSTRACT

To acquire insights into the basis of the intraspecific differences recorded between Mediterranean and tropical populations of *Caulerpa taxifolia* a comparative study of the genomes of these two kinds of populations was undertaken. From these, cDNA libraries were established. Their analysis led to the disclosure of distinctive gene sequences in the Mediterranean representatives, suggesting that gene regulation processes are at work to allow these populations a far higher level of production of toxic substances vs. the tropical ones. Phylogenetic relationships were also investigated comparing the Internal Transcribed Spacer of ribosomal DNA (ITS rDNA) of six Mediterranean populations collected from different sites to a native tropical strain from Jakarta; a *Caulerpa mexicana* strain from Israel was also included. The aligned data set was 682 nucleotides. As far as the *C. taxifolia* sequences are concerned, the two kinds of populations differed in the numbers of base pairs of both ITS1 and ITS2 spacers. The G + C content in both ITS regions ranged from 35 % to 49 %, which is far lower than that recorded in the literature for the green algae. The maximum parsimony tree revealed that among the Mediterranean populations of *C. taxifolia* the Ligurian-Tyrrhenian populations branch within the same group, while the Adriatic populations are grouped together in a distinct cluster. Moreover, the distinctness of the tropical strain of *C. taxifolia* from the Mediterranean group finds 100 % bootstrap support. Finally, the *C. taxifolia* group is clearly distinct from the related species, *C. mexicana*. The overall results support the notion that significant genomic alteration underlies the adaptation of *C. taxifolia* to the Mediterranean Sea environment.

RÉSUMÉ

Nous avons mené une étude comparative des génomes d'individus de *Caulerpa taxifolia* des populations Méditerranéennes et tropicales afin d'avoir des connaissances sur les différences intraspécifiques. Nous avons ainsi établi une bibliothèque d'ADNc. Leur analyse a permis de mettre en évidence des séquences génomiques particulières aux populations Méditerranéennes. Ceci suggère que les processus de régulation des gènes permettent à ces populations une forte production des substances toxiques par rapport aux populations tropicales. Les relations phylogénétiques ont été également étudiées en comparant les séquences ITS de l'ARN ribosomal (ITS rDNA) de six populations Méditerranéennes recueillies dans des sites différents avec une souche native tropicale de Jakarta ; une souche de *Caulerpa mexicana* d'Israël a également été incluse. Les séquences alignées sont composées de 682 nucléotides. Les deux populations de *C. taxifolia* diffèrent dans le nombre de paires de bases pour les deux séquences ITS1 et ITS2. Le nombre G + C contenu dans les deux régions ITS va de 35 % à 49 %, ce qui est beaucoup plus faible que ce qui est noté dans la littérature sur les algues vertes. L'arbre de maximum de parcimonie révèle qu'il existe une branche rassemblant les souches Méditerranéennes des populations de *C. taxifolia* de la Ligurie et de la mer Tyrrhénienne, alors

que les populations de l'Adriatique forme un autre groupe distinct. De plus, la différence entre la souche tropicale et le groupe Méditerranéen est supportée par un bootstrap de 100 %. Enfin, le groupe *C. taxifolia* est clairement distinct de celui contenant l'espèce *C. mexicana*. Il y a donc certainement eu des modifications génomiques important permettant l'adaptation de *C. taxifolia* aux conditions environnementales Méditerranéennes.

INTRODUCTION

The occurrence of sharp morphological, physiological, and ecological differences between the Mediterranean and tropical populations of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh is a well established notion (BOUDOURESQUE *et al.*, 1994; RIBERA *et al.*, 1996). Genomic rearrangements involving highly and moderately repetitive DNA sequences have recently been disclosed and are thought to underlie the strong adaptability and consequently the capacity to colonise new environments of Mediterranean populations (DINI *et al.*, 1996). Mediterranean and tropical populations differ also in the production of the bioactive terpenoids, although the nature of this difference appears to be quantitative rather than qualitative (RAFFAELLI *et al.*, 1997). An investigation has been undertaken to acquire insights into the basis of such differences which may have a bearing on the “aggressive” ecological behaviour of the Mediterranean populations.

Inter-population variation to some extent also occurs among the Mediterranean populations of *C. taxifolia*. Many of the characteristics presumed to be of taxonomic value are quite variable, even among the descendants of a single individual, and several are dependent upon environmental parameters (PRUD'HOMME VAN REINE *et al.*, 1996). In order to acquire insights into the extent of the genomic variation of Mediterranean populations of *C. taxifolia*, the phylogenetic relationships between them have been investigated.

MATERIAL AND METHODS

Strain collection

Caulerpa taxifolia thalli for the DNA extraction were collected in the field, stored in bottles filled with seawater from the collecting site or enclosed between two sheets of wet (seawater) cotton, and brought to the laboratory as soon as possible. In all cases, only healthy, fresh samples were analysed. Table I summarises the samples used in this study.

cDNA library construction

The Mediterranean Isola d'Elba and the tropical Jakarta strains were carefully washed in distilled water to remove attached debris and epiphytes and then total RNA extraction was carried out according to LOGEMANN *et al.* (1987). For the mRNA isolation we used the PolyA Trac mRNA Isolation System (Promega). The cDNA was synthesised starting from 2 µg of RNA polIA⁺ by Time Saver cDNA Synthesis Kit (Pharmacia Biotech). After addition of Eco RI/Not I adapters, the cDNA was cloned in the Eco RI site of vector Lambda Zap II, using the Predigested Lambda Zap II/Eco RI/ CIAP

Cloning Kit (Stratagene). For the packaging we used Kit Gigapack III Gold Packaging Extract (Stratagene), utilising 0.5 – 3 µg of ligated DNA. After amplification, the titles of cDNA libraries were 10^9 plaques / ml for the Mediterranean strain and 3×10^8 plaques / ml for the tropical strain. About 10^5 plaques from the two libraries were run during the first screening. After DNA extraction, denaturation and fixing on nitro-cellulose filter twice for each library, these membranes were hybridised with cDNAs labelled with ^{32}P . The differential clones were submitted to excision *in vivo* of plasmid Bluescript SK (-) from Lambda Zap II phage. Following cloning, the miniprep DNA purified was used for double-stranded sequencing.

Table I. Strains of *Caulerpa taxifolia* analysed in the present study.

Population	Locality	Collector
<i>C. taxifolia</i> Cap Martin	Cap Martin, Provence, France	F. Dini (September 1996)
<i>C. taxifolia</i> Diano Marina	Diano Marina, Ligurian, Italy	F. Dini (September 1996)
<i>C. taxifolia</i> Isola d'Elba	Isola d'Elba, Tuscany, Italy	M. Pighini (October 1997)
<i>C. taxifolia</i> Ganzirri	Ganzirri, Sicily, Italy	S. Fasulo (October 1997)
<i>C. taxifolia</i> Starigrad	Stari Grad, Croatia	A. Žuljević (April 1998)
<i>C. taxifolia</i> Malinska	Malinska, Croatia	A. Žuljević (May 1998)
<i>C. taxifolia</i> Jakarta	Jakarta, Java, Indonesia	unknown (June 1997)
<i>C. mexicana</i> Israel	Neve Yam, Atlil, Israel	R. Einav (October 1999)

DNA amplification

Total DNA extraction was carried out according to DELLAPORTA *et al.* (1983), with some minor modifications. ITS1, ITS2, and the 5.8S rDNA were amplified from the isolated DNA by the polymerase chain reaction (PCR) using an automatic thermocycler (Temp-Tronic Thermolyne). The reaction volume (50 µl) contained 0.5 µg of genomic DNA, 1.2 mM Mg^{++} , 200 µM of each dNTP, 0.3 µM of each PCR primer, 5 µl of 10X reaction buffer, and 1.5 units of Taq DNA polymerase (Promega). The primer A (5'-TCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3') anneals to the 3' end of 18S rDNA adjacent to ITS1, and the primer B (5'-TTCCTTCCGCTTATTGATATGC-3') anneals to the beginning of the 28S rDNA adjacent to ITS2. The thermal cycling profile consisted of an initial denaturation step (5 min at 95 °C) followed by 30 cycles comprising a denaturation step (30 sec at 94 °C), an annealing step (1 min at 53 °C), and an extension step (1 min at 72 °C), followed by a final extension step (10 min at 72 °C). The amplified DNA was purified by Kit QIAquick (Qiagen Inc.); aliquots of this mixture were ligated via the A overhand of the PCR fragment into pGEM-T Easy Vector (Promega). In most cases products of two PCR reactions were combined for cloning, and at least two ITS clones were sequenced for each strain. Midiprep DNA purified through Qiagen columns was used for double-stranded sequencing of the insert DNA by automatic sequencer. Obtained sequences were compared with sequences present in GenBank/EMBL by FASTA and BLAST programs, and they were aligned using CLUSTAL X program (THOMPSON *et al.*, 1997). The most-parsimonious tree was found using the heuristic search option in the maximum-parsimony analysis of PAUP (SWOFFORD, 1998). The bootstrap procedure was used to evaluate the robustness of each node (FELSENSTEIN, 1985).

RESULTS AND DISCUSSION

Nature of the peculiar characteristics of the Mediterranean populations

The Mediterranean Isola d'Elba and the tropical Jakarta strains of *Caulerpa taxifolia* were selected for establishing two cDNA libraries. Three differential screenings were run starting from about 10^5 recombinant clones using as probes the labelled cDNAs of the two selected strains. It is worth stressing that the second screening produced 20 clones whose differential nature was substantiated by their ability to hybridise exclusively with the cDNA of the Mediterranean strain. Four out the 12 clones produced by the third screening were purified and sequenced. A comparative analysis of these sequences vs. those available in GenBank was performed using the FASTA 3 and BLAST programs. A significant percentage of similarity (tab. II) occurred between PM1, PM2, and PM3 clones and representatives comprising the family of genes involved in processes which provide higher plants with resistance to pathogenic agents. This parallelism between algae and higher plants is worth stressing in so much as in plants the genes at issue appear to strengthen the biosynthesis of phenylpropanoids and isoprenoids, and the toxic sesquiterpenoids produced by *C. taxifolia* are structurally formed by isoprenoid units. It is conceivable that gene regulation processes are at work in determining the quantitative differences in the production of the toxic substances recorded between the Mediterranean and tropical populations.

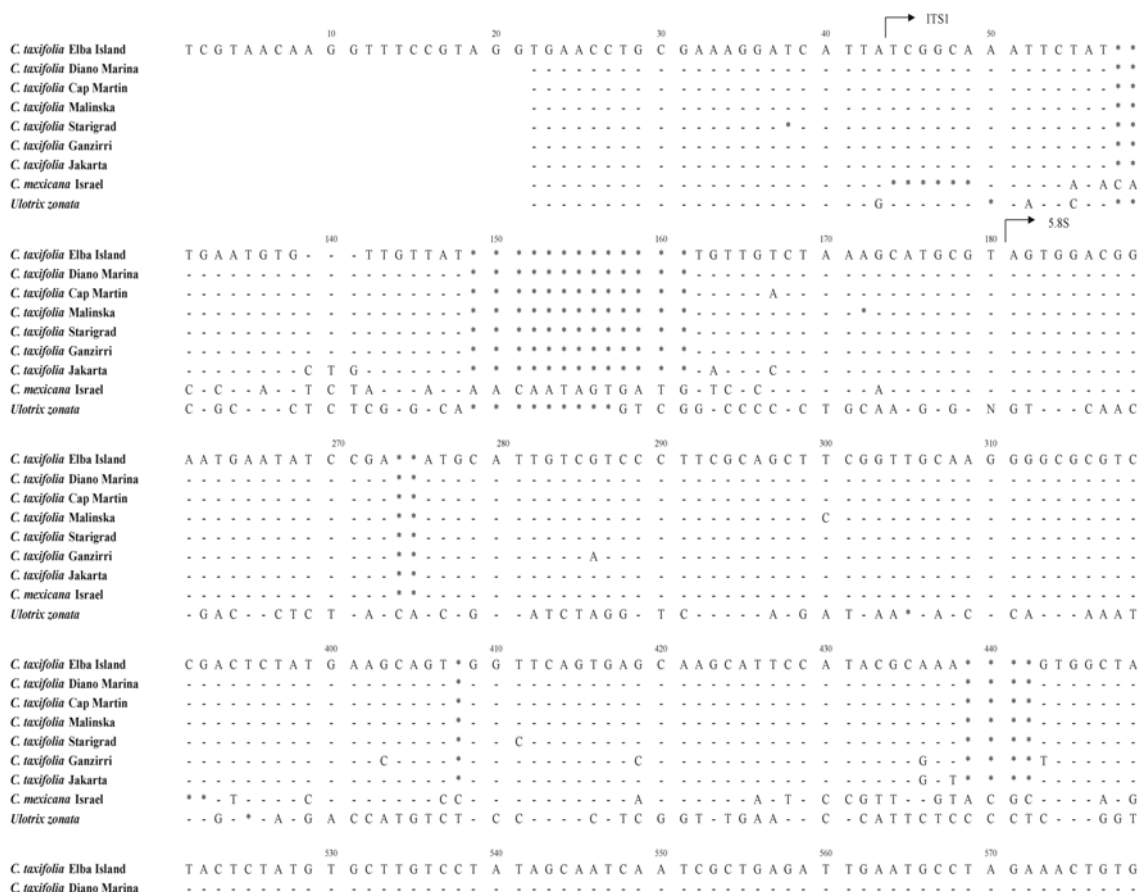


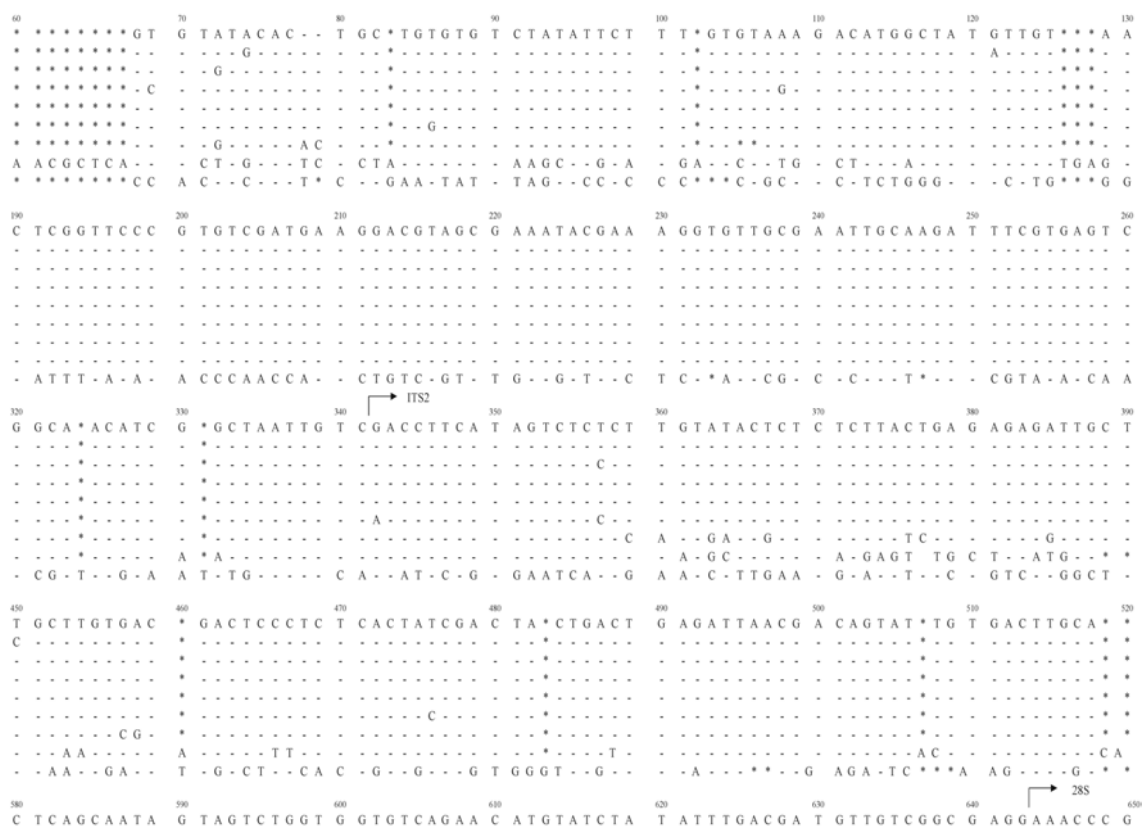
Figure 1. ITS region sequence alignments of seven strains of *Caulerpa taxifolia* collected from different sites. “-“ indicates identical nucleotides, “*” indicates deleted nucleotides; the two coloured sequences are the primers utilized for the amplification.

Table II. Features of the four characterised differential PM clones: the bp length, the coded proteins present in GenBank showing the largest sequence similarity, and the related references.

Clones	cDNA length	Coded Protein	% of similarity	Bibliography
PM1	558 bp	SAR8.2a protein, <i>Nicotiana tabacum</i>	57%	WARD <i>et al.</i> , 1991
PM2	446 bp	Osmotin-like protein PR-5d, <i>Nicotiana sylvestris</i>	88%	SATO <i>et al.</i> , 1998
PM3	848 bp	Osmotin protein precursor (NP24) gene, <i>Lycopersicon esculentum</i>	66%	MARTIN & JIA, 1999
PM4	639 bp	Proteinphosphatase 2C-like protein Spalten, slime mold <i>Dictyostelium discoideum</i>	39%	AUBRY & FIRTEL, 1997

Phylogenetic analysis

A comparative DNA sequence analysis of nuclear ribosomal cistron, comprising the internal transcribed spacers, ITS1 and ITS2, the 5.8S sequence and the short fragments of the adjacent 18S and 28S coding regions, was carried out to determine the phylogenetic relationships among the seven *Caulerpa taxifolia* strains studied (fig. 1). The analysis included also a *Caulerpa mexicana* sequence. The aligned data set is 682 nucleotides: the ITS1 spacer is 107 bp long in the tropical “Jakarta” strain and 104 bp in all Mediterranean Cap martin, Diano Marina, Isola d’Elba, Ganzirri, Malinska, Stari-grad strains, except the Malinska population lacking one nucleotide. The ITS2 spacer was 276 bp long in the Mediterranean strains vs. 275 bp in the tropical representative.



The 5.8S rRNA gene was constant in all analysed DNAs measuring 157 bp (fig. 1). The G + C content in both ITS regions ranged from 35 % to 49 %, which is far lower than that recorded in the literature for the green algae. Comparing the DNA sequences of the

seven *C. taxifolia* strains, 40 sites appeared to be variable, corresponding to a sequence divergence of 9.7%. The widest divergence (8.2%) occurred between the Mediterranean Ganzirri and the tropical strains. Data from the phylogenetic analysis performed using “maximum parsimony” method are shown in figure 2. The tree obtained reveals that all the Ligurian-Tyrrhenian specimens of *Caulerpa taxifolia* branch within the same group, while the Adriatic populations are included in a distinct cluster. Moreover, the phylogenetic analysis, supported by 100% bootstrap, aligns with that performed by JOUSSON *et al.* (1998) in stressing the appartenance of tropical and Mediterranean strains of *C. taxifolia* to different groups which, in turn, differentiate from that comprising the related species, *C. mexicana*. All of this highlights the important point that a significant, intraspecific, genomic polymorphism occurs in *C. taxifolia*.

Acknowledgements: We are indebted to Prof. Jan PAWLOWSKI for his useful criticisms of the earlier draft of the manuscript, and to Dr. Graziano DI GIUSEPPE for letting us use his unpublished data dealing with the characterization of the ITS spacers of several *Caulerpa* strains thus substantiating the information reported in this paper.

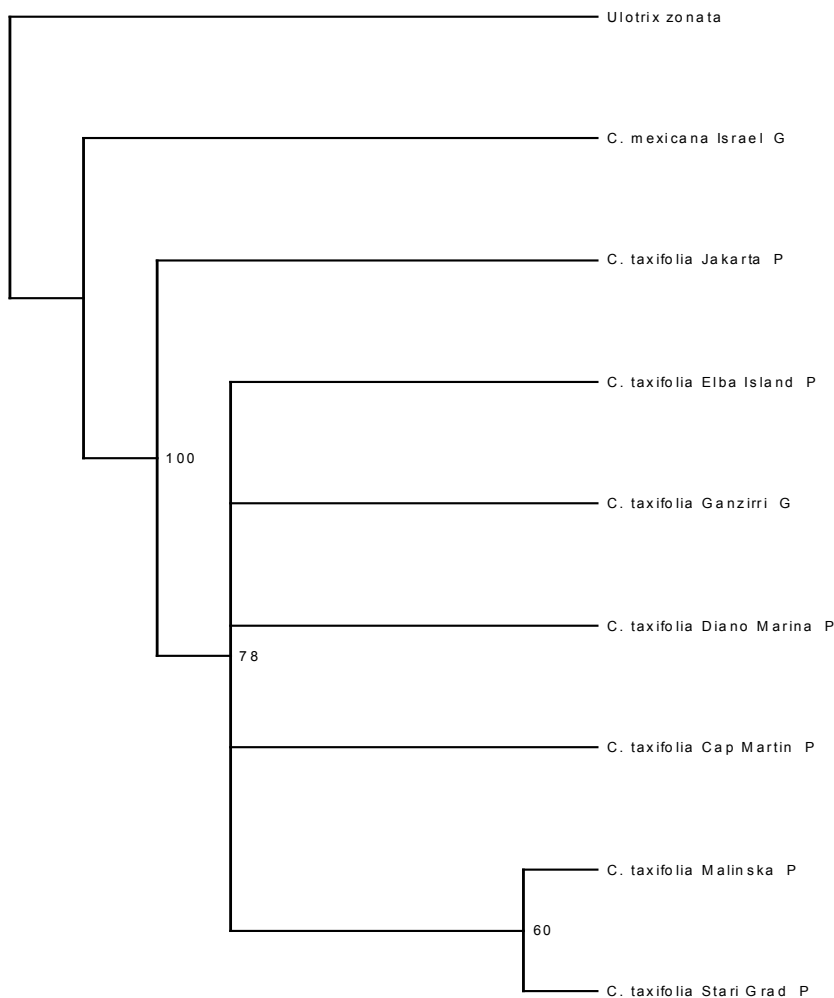


Figure 2. The maximum parsimony tree of the analysed *Caulerpa* spp. strains using *Ulotrix zonata* as outgroup. Numbers at nodes are percentages of 100 bootstrap replicates.

REFERENCES

- AUBRY L., FIRTEL R.A., 1997. Direct submission to the EMBL. *Data Library* – Accession number T08606.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., GRAVEZ V., 1994. *First International Workshop on Caulerpa taxifolia*. GIS Posidonie publ., Franc) : 391 pp.
- DELLAPORTA S.L., WOOD J., HICHS J.B., 1983. A plant minipreparation. version II. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 1 : 19-21.
- DINI F., CAPOVANI C., DURANTE M., PIGHINI M., RICCI N., TOMEI A., PIETRA F., 1996. Principles of operation of the toxic system of *Caulerpa taxifolia* that undertook a genetically conditioned adaptation to the Mediterranean Sea. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A, Gravez V. (eds.), Publicacions Universitat Barcelona, Spain : 247-254.
- FELSENSTEIN J., 1985. Confidence limits on phylogenies : an approach using the bootstrap. *Evolution* 39 : 783-791.
- JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1998. Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 172 : 275-280.
- LOGEMANN J., SCHELL J., WILLMITZER L., 1987. Improved method for the isolation of RNA from plant tissues. *Anal. Biochem.* 163 : 16-20.
- MARTIN G.B., JIVA Y., 1999. Rapid transcript accumulation of pathogenesis-related genes during an incompatible interaction in bacterial speck disease-resistant tomato plants. *Plant Mol. Biol.* 40 : 455-465.
- PRUD'HOMME VAN REINE W.F., VERHEIJ E., COPPEHANS E., 1996. Species and decads of *Caulerpa* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in malesia (South-East Asia) : taxonomy, biogeography, and biodiversity. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 30 : 83-98.
- RAFFAELLI A., PUCCI S., PIETRA F., 1997. Isospray tandem mass spectrometry for sensitive, rapid determination of minor toxic sesquiterpenoids in the presence of major analogues of the foreign green seaweed *Caulerpa taxifolia* which is invading the North-Western Mediterranean. *Anal. Comm.* 34 : 179-182.
- RIBERA M.A., BALLESTEROS E., BOUDOURESQUE C.F., GOMEZ A., GRAVEZ V., 1996. *Second International Workshop on Caulerpa taxifolia*. Publicacions Universitat Barcelona, Spain : 457pp.
- SATO F., KITAJIMA S., KOYAMA T., YAMADA Y., 1998. Ethylene-induced gene expression of osmotin-like protein, a neutral isoform of tobacco PR-5, is mediated by AGCCGCC cis-sequence. *Plant Cell Physiol.* 37 : 249-255.
- SWOFFORD D.L., 1998. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. *Sinauer Associates*, Sunderland, Massachusetts.
- THOMPSON J.D., GIBSON T.J., PLEWNIAC F., JEANMOUGIN F., HIGGINS D.G., 1997. The Clustal X windows interface : flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 24 : 4876-4882.
- WARD E.R., UKNES S.J., WILLIAMS S.C., DINCHER S.S., WIEDERHOLD D.L., ALEXANDER D.C., AHL-GOY P., METRAUX J.P., RYALS J.A., 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3 : 1085-1094.

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

CARTOGRAPHIC SURVEY, MONITORING, PUBLIC AWARENESS

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

ACQUISITION D'ÉLÉMENTS QUALITATIFS ET QUANTITATIFS SUR L'EXPANSION DE L'ALGUE *CAULERPA TAXIFOLIA* EN 1998 (ALPES- MARITIMES, PRINCIPAUTÉ DE MONACO, LIGURIE)

Thomas BELSHER¹, Andrea PEIRANO², M. PUCCINI³, M. BOUTBIEN⁴, M.
BLANC⁵, D. COROLLER¹, Jean Michel COTTALORDA⁶, Françoise DAGAULT⁷,
Eric EMERY⁸, P. FUGAZZI⁹, H. GORAGUER¹, Eric LE GALL¹, Michel LUNVEN¹,
Jean Paul MARCFELD⁵, M. PELEAU¹, Roland PUCCI¹⁰ & Thierry THIBAUT⁶

¹ IFREMER – Centre de Brest, BP 70, 29263 Plouzané, France

² ENEA, La Spezia, Italie

³ ICRAM, Italie

⁴ Genavir - Brest, France

⁵ Carabinier du Prince de Monaco

⁶ Laboratoire Environnement Marin Littoral, Nice, France

⁷ IFREMER – Centre de Sète, France

⁸ IFREMER – Centre de Toulon, France

⁹ Università di Genova, Italie

¹⁰ Service de l'Environnement de Monaco

RÉSUMÉ

La mission océanographique Califa 98 (*Caulerpa-Life-Italia*) s'est déroulée en 1998 à bord du navire océanographique de l'IFREMER et de l'ICRAM, "L'Europe". La première partie de la campagne (CALIFA 98/1) a concerné le secteur compris entre le Cap d'Ail et Menton, incluant la Principauté de Monaco. Elle a montré que l'expansion de *Caulerpa taxifolia* se poursuit, en particulier pour la Principauté de Monaco, dans la Réserve sous-marine du Larvotto, le long du tombant du Loews où des tentatives d'éradication ont favorisé la dissémination, ainsi que de part et d'autre de l'entrée du port d'Hercule. Les fonds du port de Fontvieille, dans la partie Est, le tombant de St. Nicolas ainsi que les abords du Musée Océanographique sont recouverts de plusieurs strates de *C. taxifolia*. De manière générale, de Cap d'Ail à Menton, la densité s'accroît dans les stations profondes, jusqu'à -100 m, où l'algue est maintenant rencontrée plus fréquemment.

La seconde partie de la campagne (CALIFA 98/2) a concerné, pour la première fois, les côtes de Ligurie. La majorité des ports italiens, compris entre la frontière franco-italienne et Savone, sont colonisés par *Caulerpa taxifolia*. Une mention particulière est décernée à celui d'Imperia, entièrement tapissé par l'algue. Celle-ci colonise également les parois du bassin portuaire, jusqu'à quelques centimètres sous la surface. Les prospections menées à l'extérieur des ports montrent que l'expansion se fait à partir de ceux-ci. *C. taxifolia* se raréfie lorsque l'on s'éloigne des ports. De même, la pêche, et de manière générale, la circulation maritime, apparaissent comme les principaux facteurs de dissémination. A l'extérieur des ports, l'algue colonise tout d'abord les herbiers de *Cymodocea nodosa* et la matre morte des herbiers à *Posidonia oceanica*. *C. taxifolia* commence également à pénétrer dans les herbiers à *P. oceanica* denses. Cette séquence de colonisation est la réplique de celle observée, quelques années plus tôt, entre le Cap d'Ail et Menton. Dans certains secteurs, comme celui de l'île de Gallinara, l'algue a été observée jusqu'à une profondeur de -57 m.

Un autre fait significatif est apparu au cours de cette prospection menée pour la première fois du Cap de Mortola, situé à l'extrémité Est de la baie de Menton, vers l'Ouest, en direction de

Monaco. La densité de l'algue, d'abord faible, s'accroît progressivement, désignant clairement le foyer initial d'implantation.

Enfin, au cours d'une des plongées effectuées dans le secteur d'Albenga, l'un des plongeurs de l'équipe (H.Goragner/Ifremer/Brest) a observé plusieurs Ascoglosses dans une prairie à *C. taxifolia*. L'un de ceux-ci a été ramené vivant, filmé et photographié et un spécialiste italien (N. Bianchi, Université de Gênes) a assuré sa détermination. Il s'agit de *Lobiger serradifalci*, espèce méditerranéenne, connue pour se nourrir exclusivement de Caulerpales, c'est à dire, jusqu'à présent, principalement d'espèces endémiques de la méditerranée, telle *Caulerpa prolifera*.

INTRODUCTION

Les campagnes océanographiques CALIFA 98/1 et CALIFA 98/2, menées à bord du navire océanographique "L'Europe" du 31/08/1998 au 14/09/1998 et du 11/10/1998 au 22/10/1998 s'inscrivent dans le prolongement des études menées dès 1992 par l'IFREMER pour cartographier les fonds colonisés par l'algue *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (campagnes du N.O. "Roselys 2" en mars et octobre 1992, du N.O. "L'Europe" en mars 1994 et octobre 1995, et du N.O. "Vitamar 2" en mai et septembre 1995, mars et septembre 1996). Pour le secteur monégasque, elles s'effectuent avec l'appui du Service de l'Environnement de la Principauté de Monaco et pour les secteurs français avec celui du Laboratoire Environnement Marin et Littoral (Université de Nice - Sophia Antipolis), de l'UMR CNRS 6540 DIMAR (Université de la Méditerranée - Centre d'Océanologie de Marseille) et enfin, pour le secteur italien, avec L'ENEA et l'ICRAM.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Zones d'étude

Campagne CALIFA 98/1 : une zone d'étude principale a été définie depuis 1992, afin de suivre avec le plus de précision possible la progression ou la régression de l'algue *Caulerpa taxifolia* jusqu'à la profondeur de 100 m. Elle est définie à l'ouest, par le Cap d'Ail et à l'est par la frontière franco-italienne.

Campagne CALIFA 98/2 : une zone comprise entre la frontière franco-italienne et le port de Savone a été prospectée afin de préciser l'implantation de l'algue en profondeur et compléter les données italiennes.

Matériel embarqué et mis en oeuvre

Sonar latéral, vidéo sous-marine tractée, carottier multitube, système de positionnement par GPS différentiel et logiciel de navigation assisté SODENA.

Cartographie et étude de la dynamique de population

Les trajets pour la localisation de l'algue *Caulerpa taxifolia* ont été effectués par vidéo sous-marine tractée. L'enregistrement de données est réalisé sur cassette vidéo 8 et VHS. Le positionnement par GPS, ainsi que le système de navigation assisté SODENA, ont permis de répéter la couverture des zones prospectées depuis 1992 entre Menton et le Cap d'Ail et de prospecter le secteur italien (fig. 1 et 2). Pour ce dernier, étant donné l'étendue de la zone à inspecter, les trajets ont été plus espacés que pour la zone d'étude franco-monégasque. Il s'agit donc essentiellement, pour le secteur italien, d'une première approche afin de déterminer la localisation de l'algue en profondeur ainsi que ses limites géographiques.

Un codage suivant trois classes de densité (1 à 25 %, 25 à 50 %, 50 à 100 %) est appliqué lors de la retransmission vidéo et permet d'établir en direct une première carte de répartition selon la densité (fig. 3, 4a et b).

L'analyse des trajets est poursuivie en laboratoire, afin de préciser les informations obtenues. Les trajets, segmentés minute par minute, permettent de positionner les informations obtenues. Chaque image étant pourvue lors de l'enregistrement d'un data horaire, les informations obtenues peuvent alors être reportées sur un fond de carte SHOM (fig. 3). Des cartes de synthèse, interpolant l'information entre les trajets sous-marins, sont ensuite produites (fig. 4 à 8). Elles proposent une estimation globale du pourcentage de recouvrement de l'algue dans les zones prospectées. Sur ces cartes, la présence et la densité de l'algue sont représentées en 2 dimensions par des courbes d'iso-densité de couleurs différentes. La quantification des surfaces recouvertes a été réalisée par une technique d'analyse d'image. Celle-ci permet la génération et l'extraction des contours des courbes d'iso-densité des populations de *Caulerpa taxifolia* pour les 3 classes de densité définies et, finalement, l'obtention de la surface et du périmètre de chacune des populations identifiées. En définitive, l'erreur d'estimation de surface évaluée pour chaque tâche identifiée est de 0.1 ha. Pour chaque zone étudiée, la superficie totale de la zone prospectée a pu être quantifiée de la même manière. Il est ainsi possible d'évaluer le pourcentage de surface recouverte par *Caulerpa taxifolia* ainsi que sa progression par rapport à l'année précédente.

Une couverture par sonar latéral a été initiée devant les ports d'Imperia et de San Remo ainsi que dans le secteur de Capo Lena, à proximité de l'île de Gallinara, afin de pouvoir situer dans leur environnement bio-sédimentaire l'implantation des populations de *Caulerpa taxifolia*. Parallèlement, 14 plongées pour le secteur de Cap d'Ail à Menton et 9 plongées pour le secteur italien ont été effectuées (avec le concours des plongeurs de la Compagnie des Carabiniers du Prince et de la police de la Principauté de Monaco pour le secteur monégasque, du LEML de l'Université de Nice-Sophia Antipolis et de l'ENEA pour le secteur italien). Ces plongées ont permis d'apporter des compléments d'informations quant à la répartition de la population de *C. taxifolia*.

RÉSULTATS

Campagne CALIFA 98/1 : les données sont obtenues à partir de l'analyse de 62 trajets vidéo, représentant un parcours cumulé de 73.41 km.

Campagne CALIFA 98/2 : les parcours cumulés représentent 49.65 km.

1. Côtes françaises et côtes monégasques, de Menton au Cap d'Ail

1.1. De Menton à la baie de Roquebrune

Superficie prospectée : 970.1 ha ;

Superficie colonisée : 720.18 ha soit plus de 74 % ;

Estimation des superficies par classes de densité :

classe 1 : 1-25 % : 506.15 ha

classe 2 : 25-50 % : 84.02 ha

classe 3 : 50-100 % : 130 ha

- Secteur de Menton (fig. 6)

Pour le secteur de Menton, *Caulerpa taxifolia* est présente au long de la plupart des trajets effectués, en taches de densité variable.

Les trajets parallèles à la côte (fig. 1) : *Caulerpa taxifolia*, en populations de forte densité, est rencontrée sur les trajets 1 (-8.8 m), 2 (-15 m), 4 (à 10 m de profondeur, avec pénétration dans l'herbier de *Posidonia oceanica* (L.) Delile qui la dissimule), 5 (à -15 m, dans l'herbier avec une couverture de cyanophycées blanches ; présence de plages de sable non colonisées).

Les trajets de la côte vers le large (fig. 1) permettent d'apprécier la répartition de la densité en fonction de la profondeur.

trajet 35 (forte densité de -9 à -25 m ; diminution de la densité de 25-28 à -39 m) ;

trajet 36.1 (forte densité de -23.8 à -29.6 m ; diminution de la densité de -32 à -56 m) ;

trajet 36.2 (faible densité de -46 à -56 m) ;

trajet 40 (forte densité de -13.4 à -31.6 m ; diminution de la densité de -32 à -43.7 m) ;

trajet 39 (forte densité de -11.6 à -29.1 m ; diminution de -30.6 à -37.2 m).

Cette zone, constituée de sables à "ripple marks", très instables, ne constitue pas un bon substrat pour l'implantation (Hill *et al.*, 1996) et s'avère propice à de fréquents remaniements de la couverture à *Caulerpa taxifolia*. Cependant, la représentation de celle-ci, par rapport aux résultats obtenus en 1996 (Belsher *et al.*, 1998) apparaît avoir globalement progressé en profondeur.

Une série de plongées (fig. 1 et 6, plongées 1, 2, 3 et 11) permet de compléter l'information de la cote jusqu'à 10 m de profondeur.

La plongée 11 débute à 400 m de la digue du port de Menton (07/09/98, de 15h30 à 16h15, entre -13 et -8 m ; T. THIBAUT, F. DAGAULT et M. PELEAU). A 13 m de profondeur, le fond est sableux, à "ripple-mark", avec une faible colonisation par *Caulerpa taxifolia* de la périphérie des mattes de Posidonies. Les herbiers à *Posidonia oceanica* ne sont pas colonisés en sous-strate. A partir de -8 m des herbiers de *Cymodocea nodosa* servent de support à la progression de *C. taxifolia* qui présente des formations caractéristiques, en étoile (25 à 50 % de densité).

La plongée 1 a lieu le long de la digue du port de Garavan jusqu'à l'entrée du port de Menton (31/08/98, de 15h30 à 16h30 ; entre -2 et -8 m ; J.P. MARCFELD, M. BLANC et T. THIBAUT). Elle permet d'identifier 2 zones ayant des types de colonisation différents :

- zone 1 : devant l'entrée du port de Menton et sur les 50 premiers mètres de la digue du port de Garavan, un herbier de *Cymodocea nodosa* se développe sur un substrat sablo-vaseux. *Caulerpa taxifolia* se présente sous la forme de grandes taches éparées et très denses, reliées par de longs stolons.

- zone 2 : entre la digue du port de Garavan et 200 m vers le large. La partie immergée de la digue est large de 10 m. Les blocs les plus profonds sont couverts à 90 % par *C. taxifolia*. Devant cette digue de nombreux blocs de bétons, larges, sont posés sur du sable à "ripple-mark". *C. taxifolia* se développe sur ces blocs sous la forme de petites colonies (< 2 m²) très éparées. Quelques stolons, très éparés, se présentent sur les sables à "ripple-mark" dans toute la zone prospectée.

La plongée 2 longe le côté est du Cap Martin et se termine à l'entrée du port de Menton. (01/09/98 de 10h15 à 11h30 ; entre 0 et -10 m ; J.P. MARCFELD, M. BLANC, T. THIBAUT et M. PELEAU). Elle permet d'identifier 3 zones :

- zone 1 : du Cap Martin au 1^{er} épi de la plage de Carnolés. Sur une largeur de 100 m, les roches et le sable sont colonisés à 75 % par *Caulerpa taxifolia* ; les abords du 1^{er} épi sont colonisés à 40 %.

- zone 2 : du 1^{er} épi de la plage de Carnolés au petit port de plaisance. Les enrochements des épis sont couverts à 90 % par *C. taxifolia* sur une bande de 2 m de large. Entre les épis, toutes les zones rocheuses ou herbiers de *Cymodocea nodosa* sont colonisées par des taches de *C. taxifolia* de différents diamètres et par des stolons isolés.

- zone 3 : du petit port de plaisance à l'entrée du port de Menton. Le secteur situé devant les plages de Menton est colonisé à 50 % par *C. taxifolia* sur une largeur de 150 m. *C. taxifolia* se présente sous la forme de colonies à densité 100 %, dans les herbiers de *Cymodocea nodosa* et de stolons éparés sur le sable à "ripple-mark". Les enrochements du port de Menton sont couverts à 90 % par *C. taxifolia* sur une bande de 3 m de large.

La plongée 3 va du port de Garavan à la frontière italienne (01/09/98, de 15h30 à 16h30, entre 0 et -6 m ; J.P. MARCFELD, M. BLANC et M. PELEAU). Dans et devant le port de Garavan, *Caulerpa taxifolia* se présente sous forme de petites colonies éparées (< 20 cm²) sur un substrat sablo-vaseux. Cette zone est colonisée à 5 % par l'algue, celle

proche de la frontière (200 m x 60 m) est colonisée à 20 %. Entre cette zone et devant le port le substrat est sableux et *C. taxifolia* n'a pas été observée.

- Secteur du Cap Martin (fig.6)

Les tombants, à l'est et à l'ouest de la pointe du Cap Martin, demeurent entièrement colonisés par *Caulerpa taxifolia*. L'algue est repérée jusqu'à 61 m de profondeur.

Les trajets 4, 5,6, 9 et 10 sont parallèles à la côte. Du fait des tombants prononcés du Cap Martin, les trajets effectués par vidéo tractée sont situés entre 15 et 40 m de profondeur ; *Caulerpa taxifolia* est présente dans l'herbier à *Posidonia oceanica* dense qui la dissimule et en bordure de l'herbier, entre 15 et 20 m de profondeur.

Les trajets de la côte vers le large :

trajet 41 (forte densité de -15.4 à -29.6 m et diminution de densité de -30 à -61 m) ;

trajet 42 (forte densité de -35 à -38 m et diminution de densité de -39 à -58 m) ;

trajet 43 (forte densité de -20.8 à -38.3 m avec une interruption entre -21 et -27 m puis diminution de densité jusqu'à -53 m) ;

trajet 48 (fragments de caulerpe en grand nombre de -55 à -59 m) ;

trajet 49 (faible densité de -33 à -51 m).

La plongée 5 concerne la face ouest du Cap Martin, jusqu'à la plage de la Buse (02/09/98, de 15h00 à 15h30, entre -7 et -10 m ; J.P. MARCFELD, T. THIBAUT). A 10 m du bord, sur toute la longueur du trajet, *Caulerpa taxifolia* forme une bande continue de 20 m de large. L'algue colonise aussi bien les roches que l'herbier de Posidonie, avec une densité de 90 %.

En définitive, une carte de répartition de *Caulerpa taxifolia*, regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée, est proposée (fig. 6).

1.2. De la baie de Roquebrune au Cap d'Ail

Superficie prospectée : 919.4 ha ;

Superficie colonisée : 587.71 ha soit 64 % ;

Estimation des superficies par classes de densité :

classe 1 : 1-25 % : 432.15 ha

classe 2 : 25-50 % : 80.71 ha

classe 3 : 50-100 % : 75.89 ha

- Secteur de la baie de Roquebrune (fig. 7)

Les trajets 11, 12, 38, 34, 33, 32, 50 et 51 sont parallèles à la côte (fig. 1). *Caulerpa taxifolia* se développe dans des herbiers à *Cymodocea nodosa* et *Posidonia oceanica*, parsemés de zones sableuses. Sa densité est faible, sauf sur les trajets 11 et 33.

Les trajets 13, 14, 15 et 16, de la côte vers le large (fig.1), confirment les observations des trajets précédents. La présence de *Caulerpa taxifolia* est relevée jusqu'à 48 m de profondeur.

La plongée 4 permet de décrire les fonds de la baie de Roquebrune situés entre la pointe de la Veille et la plage de la Buse (02/09/98, de 10h00 à 11h00, entre 0 et -32 m ; J.P. MARCFELD, M. BLANC, M. PELEAU et F. DAGAULT). Ainsi, de la pointe de la Veille à la plage de la Buse, entre 0 et -10 m, *Caulerpa taxifolia* colonise, à 40 %, les parties rocheuses et sableuses à l'exception de la partie sableuse située devant la plage elle-même. A 32 m de profondeur, le substrat est sablo-vaseux, faiblement colonisé par *C. taxifolia*. De -30 à -15 m l'herbier à *Posidonia oceanica* n'est pas colonisé par *C. taxifolia*. En revanche, de -15 à -7 m, quelques colonies de *C. taxifolia* sont présentes dans l'herbier de Posidonies ; cette zone est colonisée entre 1 et 25 % de densité. A -7 m, le talus marquant la fin de l'herbier à *P. oceanica* est couvert à 100 % par *C. taxifolia*. Au total, *C. taxifolia* progresse dans la baie de Roquebrune.

- Secteur de Monaco (fig. 7)

La superficie prospectée va du Beach au Port de Cap d'Ail, en passant devant le Musée Océanographique de Monaco. Les trajets vidéo ont tous eu lieu en dessous de -30 m, du fait de la configuration du secteur. Par ailleurs, un périmètre de protection des caméras sous-marines du Musée Océanographique, délimité par des balises, ne permet pas une prospection complète par vidéo. Celle-ci a donc été complétée par plusieurs plongées (plongées 6 à 10 et 14 ; fig. 1).

Les trajets 22, 23 et 52 sont parallèles à la côte. *Caulerpa taxifolia* est présente, en densité faible, sur tous ces trajets, entre -32 et -62 m.

Sur les trajets de la côte vers le large seules quelques taches de *Caulerpa taxifolia* ont été repérées le long du trajet 20.

La plongée 8 a permis d'inspecter les fonds entre les pointes du Sporting d'été et de la Veille (04/09/98, de 15h00 à 15h50, entre -15 et -1 m ; J.P. MARCFELD, M. BLANC, F. DAGAULT et M. PELEAU). Elle permet d'identifier 2 zones :

- zone 1 : enrochement jusqu'à -10 m avec des taches de *Caulerpa taxifolia* de 2 m². La couverture de cette zone est de 1 à 25 %.

- zone 2 : enrochement jusqu'à -3 m, couvert à 100 %. A partir de -3 m, l'herbier à *Posidonia oceanica* est en partie colonisé par *C. taxifolia*. En profondeur, l'herbier à *P. oceanica* devient dense avec quelques taches de *C. taxifolia*, en particulier sur le rebord des mattes.

La plongée 9 explore le tombant du Loews (05/09/98, de 14h40 à 15h40, entre -0 et -34 m ; T. THIBAUT, F. DAGAULT et M. PELEAU). Elle permet d'identifier 2 zones :

- zone 1 : la zone explorée s'étend du milieu de la digue du port (feu rouge) à la pointe du Loews. La zone proche de la digue, de -34 m à la surface, est couverte de stolons de *Caulerpa taxifolia* et de taches éparses. Aussi bien le fond sablo-vaseux que les enrochements de la digue sont colonisés par *C. taxifolia* à l'exception du récif artificiel à 30 m de profondeur.

- zone 2 : le tombant du Loews est colonisé à 100 % ainsi que l'herbier à *Posidonia oceanica* ; les frondes de *C. taxifolia* égalent en hauteur les feuilles de Posidonie, les recouvrant parfois. Les petits fonds, au-dessus du tombant, ne sont plus colonisés car l'hydrodynamisme est important.

La plongée 10 se déroule à la sortie du port de Monaco (06/09/98, de 15h00 à 16h00, entre 0 et -38 m ; T. THIBAUT, F. DAGAULT et M. PELEAU). Le départ de la plongée s'est fait du milieu de la digue. A -5 m, une tache de *Caulerpa taxifolia* est présente sur un bloc et jusqu'à -36 m, seuls quelques stolons isolés ont été observés. De -36 à -38 m, sur fond sablo-vaseux, la couverture par *C. taxifolia* est de 25 %. A -32 m se trouve l'épave d'un remorqueur non colonisé par *C. taxifolia*.

- Secteur du Musée océanographique (fig. 7)

Des populations denses de *Caulerpa taxifolia* sont repérées jusqu'à -62 m. Une reconnaissance en plongée (plongée 7, 03/09/98, de 15h00 à 15h50, entre -34 et -3 m ; J.P. MARCFELD, M. PELEAU, J.M. COTTALORDA et T. THIBAUT) confirme que tout le secteur devant le Musée Océanographique de Monaco reste entièrement recouvert par *Caulerpa taxifolia*. Sur tout le trajet, la couverture de *C. taxifolia* est de 100 %. Le fond est vaseux entre -34 et -20 m puis rocheux en allant vers la surface. Cette plongée a permis la récolte, sous les fenêtres du musée, de débris de coraux tropicaux et de divers morceaux d'aquariums.

- Réserve du Larvotto (fig. 7)

Des trajets (18 et 19) ont été effectués en limite de la réserve du Larvotto et n'ont pas révélé la présence de *Caulerpa taxifolia* en dessous de 39 m de profondeur. Par contre, l'intérieur de la réserve a été prospecté en plongée, de -36 m jusqu'à la côte. La réserve apparaît, par rapport aux années précédentes, de plus en plus colonisée par *C. taxifolia*. En 1996, seule une tache de *C. taxifolia* avait déjà été trouvée à -30 m, au droit de la réserve.

Trajet 18 : de -36 à -34 m le fond est sablo-vaseux, avec une couverture entre 25 et 50 % de *Caulerpa taxifolia*. Les frondes sont courtes. De -34 à -29 m, le fond est sablo-vaseux avec de petits blocs rocheux et une couverture de *C. taxifolia* entre 25 et 50 %. Les frondes font 15-20 cm de long. De -29 à -23 m, le fond est sablo-vaseux, la couverture par *C. taxifolia* atteint 75 et 100 %. De -23 à -21 m, des épaves sont présentes à -23 m et leur pourtour est densément colonisé par *C. taxifolia* (75 et 100 %). De -21 à -17 m, le fond est sableux, la couverture par *C. taxifolia* atteint 75 à 100 % ; on note la présence d'algues filamenteuses (*Tribonema* sp.). De -17 à -14 m, la limite inférieure des Posidonies est à -17 m sur sable coquillier ; la couverture par *C. taxifolia* est entre 25 et 50 %. Il y a peu de *C. taxifolia* en sous strate de l'herbier de Posidonie. En revanche, de -14 à -12 m, l'herbier de Posidonie est envahi à 90 % par *C. taxifolia*. De -12 à -7 m, le fond est constitué de sable fin, couvert par *C. taxifolia* entre 75 et 100 %. A -7 m, au pied de l'enrochement, la couverture de *C. taxifolia* atteint 100 %. De -7 à -1 m, le substrat est rocheux et couvert par *Padina pavonica* et *Udotea petiolata*, sans *C. taxifolia* ; à ce niveau l'hydrodynamisme est important. Cette zone est surpâturée par *Sarpa salpa*. Au niveau de la digue Est du Larvotto, l'herbier de

Posidonie est dense et des roches sont présentes vers la plage ; *C. taxifolia* n'a pas été observée à ce niveau.

Trajet 19 : A -34 m, le recouvrement de *Caulerpa taxifolia* est de 25 % sur un fond sablo-vaseux. De -32 à -25 m, le recouvrement par *C. taxifolia* est de 25 à 50 % sur un fond sablo-vaseux. De -25 à -6 m, le recouvrement de *C. taxifolia* va de 50 à 100 %. La limite inférieure de l'herbier à *Posidonia oceanica* se trouve à -25 m. A -15 m, la matte de Posidonie est présente sur fond sablo-vaseux ; *C. taxifolia* est présente entre et dans la matte. La limite supérieure de l'herbier à *P. oceanica* se trouve à -12 m. Là, débute un talus recouvert de ciment et d'une émulsion blanche, à l'aplomb d'un chantier du hall du centenaire. A ce niveau, on note l'absence totale de vie et la présence importante de matières en suspension. De -6 à -1 m, *C. taxifolia* est absente.

La plongée 6 a été effectuée dans la réserve (03/09/98, de 10h15 à 10h52 ; M. BLANC, F. DAGAULT, E. EMERY et T. THIBAUT).

Des plongées, regroupées sous le n°14, (fig. 1) ont eu lieu en juillet, dans le port de Fontvieille, dans le cadre de la poursuite des mesures d'écophysioogie sur les peuplements à *C. taxifolia*. Toute la partie Est du port de Fontvieille est densément recouverte par plusieurs strates de *C. taxifolia*.

-secteur du cap d'Ail (fig. 7)

Les trajets 24, 25, 53 (en partie), 50, 59, 60 et 61 ont été réalisés parallèles à la côte (fig. 7). L'herbier à *Posidonia oceanica* dense est pénétré par *Caulerpa taxifolia* entre -10 et -20 m, en densité variable, parfois forte. L'algue *C. taxifolia* est repérée jusqu'à -78 m (trajet 60) et des populations denses sont identifiées à -37 m (trajet 61).

Les trajets 55, 56, 28, 29, 30 et 31, de la côte vers le large, montrent des populations de *Caulerpa taxifolia* denses à 20-22 m de profondeur. Une population continue mais de faible densité est identifiée de -38 à -45 m (trajet 28). *C. taxifolia* atteint, par endroits, l'isobathe -100 m (trajet 28). L'expansion se poursuit vers l'est, au droit du Cap Rognoso ou des implantations ont été repérées jusqu'à -75 m.

Les plongées 12 et 13 permettent de décrire les fonds compris entre -6 et -41 m. La plongée 12 (10/09/98, de 11h00 à 12h00, entre -15 et -6 m ; T. THIBAUT, F. DAGAULT, T. BELSHER, E. EMERY, M. PELEAU et M. BLANC) a eu lieu dans une zone constituée d'un herbier à *Posidonia oceanica* dense, colonisé par de nombreuses taches de *Caulerpa taxifolia* très denses. *C. taxifolia* se développe aussi bien en sous-strate de l'herbier que sur les inter-mattes rocheuses. La longueur des frondes égale parfois celle des feuilles de Posidonies (> 50 cm). La densité des rhizomes de Posidonies est moins dense à -15 m. Cette zone est couverte entre 50 et 75 % par *C. taxifolia*.

La plongée 13 a permis de distinguer 3 zones (11/09/98, de 14h45 à 15h25, entre -41 et -12 m ; E. EMERY, F. DAGAULT et M. PELEAU) :

- zone 1 : de -41 à -35 m, cette zone est constituée d'un fond sablo-vaseux avec des débris coquilliers. La couverture par *Caulerpa taxifolia* est d'environ 50 % ; elle est mélangée à des algues brunes et rouges.

- zone 2 : de -35 à -27 m, le fond est recouvert de *C. taxifolia* entre 75 et 100 %. De -27 à -18 m, la zone 2 est constituée d'un herbier à *Posidonia oceanica* dense (épiphyté par des algues), colonisé en sous-strate par *C. taxifolia* (1 à 25 %). De -18 à -12 m : la limite inférieure de l'herbier de Posidonie se trouve dans cette tranche de profondeur et cède sa place à un fond couvert par *C. taxifolia* entre 75 et 100 %.

En définitive, une carte de répartition de *C. taxifolia*, regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée, est proposée (fig. 7). Pour l'ensemble du secteur prospecté, soit 1889.5 ha, bordant un linéaire côtier de plus de 25 km, *Caulerpa taxifolia* colonise 1307.9 ha soit 69 % de la zone prospectée. Plus de 200 ha sont affectés par des recouvrements de l'algue compris entre 50 et 100 %.

2. Côtes de Ligurie italienne : de la frontière franco-italienne à Loano

2.1. De Menton à Capo Verde

Surface colonisée : 29.18ha ;

Estimation des superficies par classes de densité :

classe 1 : 1-25 % : 16.34 ha

classe 2 : 25-50 % : 5.10 ha

classe 3 : 50-100 % : 7.74 ha

- Secteur de San Remo (fig. 8)

La population de *Caulerpa taxifolia* a une densité généralement faible à partir de -17 m jusqu'à -28 m devant l'entrée du port (fig. 8, trajets de 1 à 5). La présence de *C. taxifolia* n'est plus détectée au fur et à mesure que l'on progresse soit vers Capo Verde soit vers Bordighera.

- Secteur de Bordighera à Menton (fig. 8)

La présence de *Caulerpa taxifolia* augmente significativement au fur et à mesure que l'on se rapproche de la frontière franco-italienne. Au delà du Cap de Bordighera, où l'algue est détectée à -18 m, elle est retrouvée face à Vintimiglia entre -15 et -16 m, puis à proximité du Cap de Mortola entre -18 et -36 m, avec de fortes densités entre -20 et -26 m. Enfin, à la frontière, *C. taxifolia* est présente dans la baie de Menton, entre -14 et -40 m, avec des zones de forte densité entre -20 et -33 m.

Les plongées 1 et 2 ont permis de compléter les observations précédentes (fig. 8). La plongée 1 a lieu le long de la digue du port de Bordighera jusqu'à l'entrée du port (11/10/98, entre -7 et -18 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). A 7 m de profondeur, *Caulerpa taxifolia* est absente sur le substrat sableux et les enrochements de la digue. De -7 à -18 m, on a observé une prairie de *Cymodocea nodosa* et 2 tâches de *Posidonia oceanica* moribondes. Sur substrat sableux et sable fin, des stolons isolés

de *C. taxifolia* sont présents (densité de 0 à 5 %). La limite inférieure de la prairie de *Cymodocea nodosa* se trouve à 18 m de profondeur ; elle laisse place à du sable fin sans végétation.

La plongée 2 longe la digue du port de San Remo (12/10/98, de 10h35 à 11h35, entre -25 et -11 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). *Caulerpa taxifolia* est présente entre -25 et -11 m (1 à 5 %). Dans une zone plus abritée, entre -10 et -12 m, *C. taxifolia* est plus développée. Au pied de l'enrochement, sa couverture atteint 20 % ; les stolons sont dirigés vers le large. Le parcours vers le large, devant l'entrée du port, entre -12 et -15 m, met en évidence une couverture faible dans les premiers mètres puis régulière jusque -15 m (environ 20 %). Les stolons et les frondes de Caulerpe y sont bien développés et de nombreux fragments dérivent au-dessus du sable fin.

2.2. D'Arma di Taggia à capo Mele

Surface colonisée : 103.83ha ;

Estimation des superficies par classes de densité :

classe 1 : 1-25 % : 103 ha

classe 2 : 25-50 % : 3 taches de petite taille

classe 3 : 50-100 % : 0 ha

- Intérieur du port d'Imperia (fig. 9)

Au total, une surface de 3.78 ha est colonisée à 100 % par *Caulerpa taxifolia* et 17.15 ha sont atteints.

Les trajets 15, 14, 12, 13, 52, 50, 19, 20, 21, 10, 8, 9, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 40, 39 (fig. 9) ont permis d'étudier cette zone. Les trajets effectués devant Imperia montrent que *Caulerpa taxifolia* est présente jusqu'à 35 m de profondeur (trajet 8).

En allant en direction d'Arma di Taggia, la Caulerpe se raréfie : à Stefano al Mare et à Riva Ligure, elle est inféodée aux mattes mortes de phanérogames, entre -18 et -20 m. Il en est de même en direction de Capo Mele. A Capo Berta et Diana Marina, elle est repérée entre -16 et -35 m. Enfin, une population de densité faible se développe entre Capo Cervo et Marina di Andora entre -15 et -25 m, sur sable, vase, mattes mortes d'herbier de phanérogames, ainsi que dans l'herbier vivant de Posidonie, à 20 m de profondeur environ (trajet 43, Capo Cervo).

Les plongées 3 à 5, 8 et 9 complètent les observations précédentes (fig. 9). La plongée 3 concerne les digues du port d'Imperia (13/10/98, de 10h15 à 11h30, entre -3.5 et -15 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). Tous les enrochements sont recouverts par *Caulerpa taxifolia*, jusqu'à -6 m ; la densité de l'algue diminue en profondeur, dès l'apparition de substrat sableux.

La plongée 9 est effectuée au large du port d'Imperia, sur un herbier à *Posidonia oceanica* (20/10/98, -14 m ; A. PEIRANO, H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). Le fond est recouvert par un herbier à *Posidonia oceanica*, entre-coupé de

petites clairières sableuses très éparées. *Caulerpa taxifolia* est présente sur les petits tombants de matte de Posidonie et constitue des taches de 0.5 à 2 m² (5 % de couverture).

La plongée 4 a lieu face à Arma di Taggia (14/10/98, entre -5 et -18 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). *Caulerpa taxifolia* est très éparse à -18 m et se présente essentiellement sous forme de stolons isolés parmi un herbier clairsemé de Posidonie. A partir de -16 m, la couverture de *C. taxifolia* est plus dense (de 10 à 30 %). Les touffes de Posidonie sont isolées jusque -7 m, puis forme un herbier dense de -7 à -5 m, sans *C. taxifolia*.

La plongée 5 concerne la face est de Capo Mele (16/10/98, de 10h30 à 12h00, entre -5 et -30 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). Des taches de *Caulerpa taxifolia* sont présentes dans des roches artificielles et naturelles, entre -3 et -5 m. A partir de 5-6 m de profondeur, on trouve du sable avec *C. taxifolia* éparse et un herbier de Posidonie très envasé.

La plongée 8 se déroule à proximité de Marina di Andora, près de la face ouest de Capo Mele (19/10/98, de 15h30 à 16h30, entre -8 et -22 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). De -8 à -12 m, on trouve une prairie de *Cymodocea nodosa* sur sable, colonisée par *Caulerpa taxifolia* (20 à 30 %). A -12 m, on trouve un herbier à *Posidonia oceanica* et *C. taxifolia* en périphérie et jusqu'à 15 m de profondeur environ. De -19 à -22 m, le sable comporte des petites touffes d'herbier de Posidonie sans Caulerpe.

2.3. De Capo Mele à Loano

Surface colonisée : 48.48 ha ;

Estimation des superficies par classes de densité :

classe 1 : 1-25 % : 40.76 ha

classe 2 : 25-50 % : 6.77 ha

classe 3 : 50-100 % : 0.95 ha

Les trajets 22 à 38 (fig. 10). Des taches de *Caulerpa taxifolia* de faible densité sont présentes jusqu'à l'île de Gallinara, à des profondeurs comprises entre 22 et 41 m (29 m à Laigueglia, trajet 38 ; de -31 à -41 m à Capo Croce, trajet 34 ; de -22 à -28 m à Alassio, trajet 28). Le tour de l'île de Gallinara, zone proposée comme Parc national, révèle la présence de *C. taxifolia* entre 15 et 58 m de profondeur (trajet 30) et une répartition entre -12 et -38 m, en faible densité, à proximité du nord de l'île (trajet 29). Par contre, des taches de forte densité apparaissent entre -13 et -25 m, au fur et à mesure que l'on va vers Albenga (trajets 31 et 32). L'algue est détectée jusqu'à -36 m. Entre Albenga et Ceriale, *C. taxifolia* est présente entre -14 et -40 m, avec des interruptions dues à la présence d'herbier de Posidonie dense (trajets 22, 33). Enfin de Ceriale à Loano, *C. taxifolia* est présente entre 23 et 32 m de profondeur (trajets 23 et 24). Après les structures artificielles de Loano, jusqu'à Pietra Ligure, *C. taxifolia* n'a pas été rencontrée. Loano apparaît donc, pour cette période de prospection, comme la limite Nord d'extension de *C. taxifolia* de ce secteur de la mer ligure.

Les plongées 6 et 7 complétant les observations précédentes (fig. 10). La plongée 6 a lieu face à Albenga (18/10/98, de 10h30 à 11h45, entre -2 et -8.5 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). A l'aplomb d'une digue, à -2 m : pas de *Caulerpa taxifolia* sur la roche. En revanche, de -2 à -3 m, de nombreux fragments de Caulerpe sont présents sous forme d'épaves dérivantes. De -3 à -4.5 m, des boutures de *C. taxifolia* sont en cours de fixation au sein des *Cymodocea nodosa*. De -4.5 à -8.5 m, les cymodocées sont plus densément colonisées par *C. taxifolia* (20 à 30 %). Par contre, *C. taxifolia* est absente des zones vaseuses. On note la présence de l'ascoglosse *Lobiger serradifalci* sur des frondes de *C. taxifolia*.

La plongée 7 a lieu à proximité d'Alassio (18/10/98, de 16h00 à 17h00, entre -7 et -12 m ; H. GORAGUER, D. COROLLER et E. EMERY). Des stolons de *Caulerpa taxifolia* sont isolés sur le sable et au sein d'une prairie de *Cymodocea nodosa* très éparses. A -12 m, des touffes de Posidonie sont présentes ainsi que des Caulerpes éparses. A partir de -18 m, l'eau est de plus en plus turbide et la végétation (*C. taxifolia* et *P. oceanica*) est couverte de vase. *C. taxifolia* est présente jusqu'à 29 m de profondeur en colonies éparses couvertes de sédiment fin.

Les côtes de Ligurie italienne ayant fait l'objet de cette première prospection par vidéo tractée et plongée sous-marine représentent un linéaire de 98 km. La superficie comprise entre la côte et l'isobathe des 50 mètres est évaluée à 17 025 ha. Près de 200 ha ont été trouvés colonisés par l'algue *Caulerpa taxifolia*, dont 12 ha avec un recouvrement du substrat compris entre 50 et 100 %. Etant donné l'étendue du secteur à prospector, les trajets effectués l'ont été généralement avec des intervalles parfois de plusieurs kilomètres, ne permettant pas, la plupart du temps, d'extrapolations. Au vu de la répartition des localisations, une continuité de la présence de *C. taxifolia* est cependant vraisemblable entre Imperia et Capo Mele, ainsi qu'entre Capo Croce et Borghetto Spirito. Aussi, les chiffres issus de cette prospection, compte tenu de celles effectuées par ailleurs (CINELLI *et al.*, 1998 in MEINESZ *et al.*, 1997) sont, vraisemblablement, une sous-estimation de la réalité quant à la colonisation des côtes liguriennes par *C. taxifolia*.

3. Recouvrement

Sur le secteur de Cap d'Ail à Menton, les populations denses de *Caulerpa taxifolia*, c'est à dire celles dont le recouvrement du substrat est compris entre 50 et 100 %, progressent. Devant le Musée Océanographique de Monaco et au large du Cap d'Ail, cette classe de recouvrement peut s'étendre, par endroits, en dessous de 50 m de profondeur. De manière générale, la poursuite de l'expansion continue, dans la zone photique de développement optimal, qui apparaît limitée à -30 m, ainsi que plus lentement, en profondeur. Elle se manifeste alors généralement par des populations de faible densité. Sur le secteur italien, les objectifs étaient le repérage en profondeur de la population de *C. taxifolia* le long des côtes liguriennes. L'algue a ainsi été localisée à -57 m à proximité de l'île de Gallinara. Les recouvrements observés sont majoritairement inférieurs à 25 %, à l'exception du secteur compris entre Menton et Capo Mortola, du port d'Imperia, et du nord-est de l'île de Gallinara.

4. Biocénoses concernées

Toutes les biocénoses et tous les types de substrats rencontrés continuent d'être concernés, avec, en profondeur, des atteintes du coralligène. Les biocénoses principales, colonisées sur les secteurs étudiés, sont maintenant bien identifiées et délimitées grâce à la carte bio-sédimentaire établie par sonar latéral (BELSHER & HOULGATTE, 2000). Ce sont celles des sables fins de hauts niveaux (SFHN), des sables fins bien calibrés (SFBC), des sables et graviers sous l'influence des courants de fonds (SGCF), du coralligène, du détritique côtier (DC), de l'herbier à *Posidonia oceanica* (P.O) et enfin, celle des algues photophiles (AP). Les algues photophiles de l'étage infralittoral sont, à de rares exceptions près, totalement supplantées, lorsqu'elles sont entièrement recouvertes par une couverture dense à *C. taxifolia*. Sur le secteur italien, les herbiers de phanérogames, en particulier de *Cymodocea nodosa*, surtout lorsqu'ils sont dégradés, s'avèrent être un bon support pour l'implantation de *C. taxifolia*.

CONCLUSION

L'expansion de *Caulerpa taxifolia* continue sur tous les types de substrats, avec une dynamique variable selon la nature de ceux-ci et la profondeur. D'une manière générale, l'expansion gagne en profondeur. Les populations denses de Caulerpe restent, dans leur grande majorité, confinées entre la surface et -30 m. Les atteintes à la biodiversité végétale sont très fortes sous les populations denses de *C. taxifolia*.

L'algue *Caulerpa taxifolia* occupe actuellement, vraisemblablement, plus de 4600 ha d'après une estimation de l'Université de Nice (LEML-UNSA) antérieure à nos prospections le long des côtes franco-monégasques et de la Ligurie (MEINESZ *et al.*, 1997).

Enfin, un prédateur indigène serait-il susceptible, au fil des années, d'intervenir naturellement dans la limitation de l'expansion de *C. taxifolia*? La découverte de *Lobiger serradifalci* dans les populations de *C. taxifolia* des côtes liguriennes a été faite pour la première fois dans ce secteur, après celle faite en France et en Croatie. Ceci témoigne, en tout cas, des facultés d'adaptation de certaines espèces à des bouleversements imprévus de l'écosystème.

Remerciements : Nos remerciements vont à tous ceux qui ont permis et facilité cette étude et en particulier au Pr. C.F. BOUDOURESQUE, coordonnateur du Programme Européen LIFE DGXI sur le "Contrôle de l'expansion de *Caulerpa taxifolia*", à l'ENEA et à l'ICRAM, ainsi qu'à Mme et M.P.V. KLAVEREN, M.R. PUCCI (Service de l'Environnement de Monaco), M.P. TROIN et son équipage (Service de la Marine de Monaco), M.J.M. ESTIENNE et les plongeurs de la Compagnie des carabiniers du Prince de Monaco.

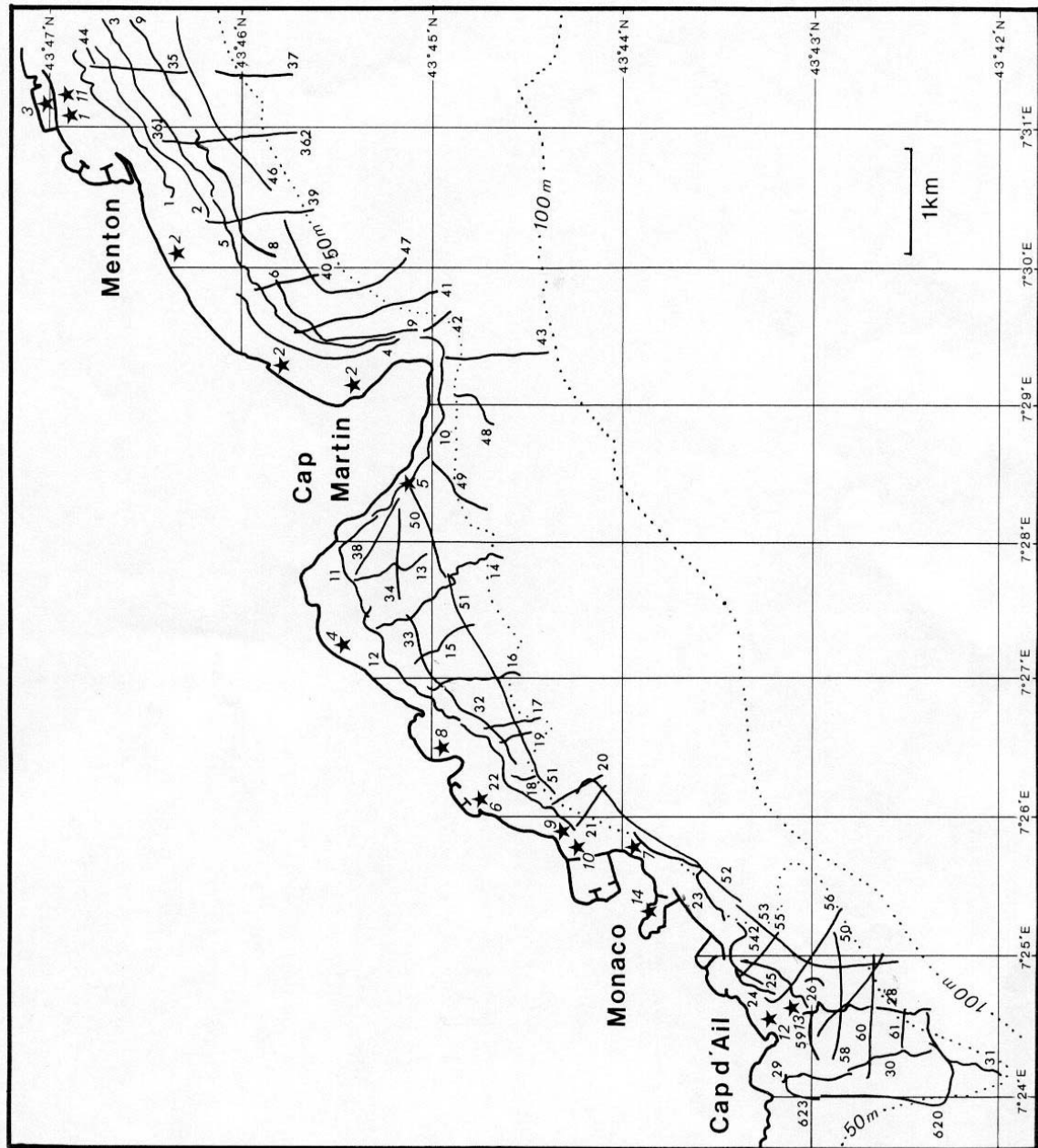


Figure 1. Côtes françaises et côtes monégasques, de Menton au Cap d'Ail : trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (astérisque et n°en italique).

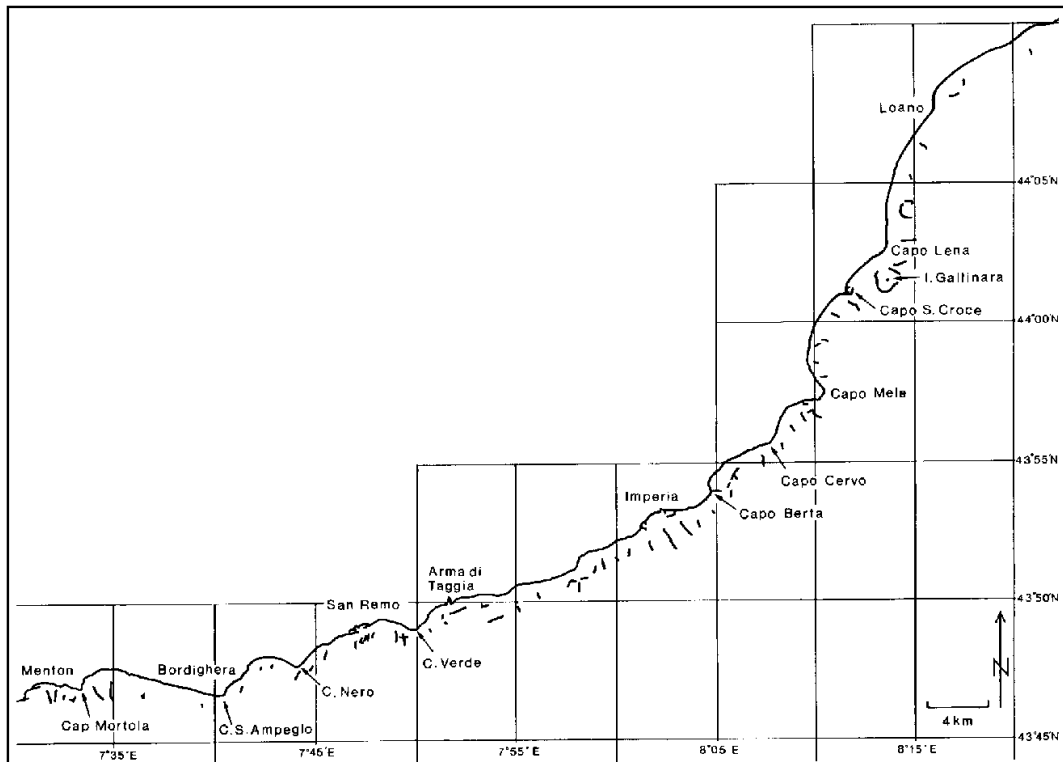


Figure 2. Côtes de Ligurie, de la frontière franco-italienne à Loano. Trajets effectués par vidéo-tractée.

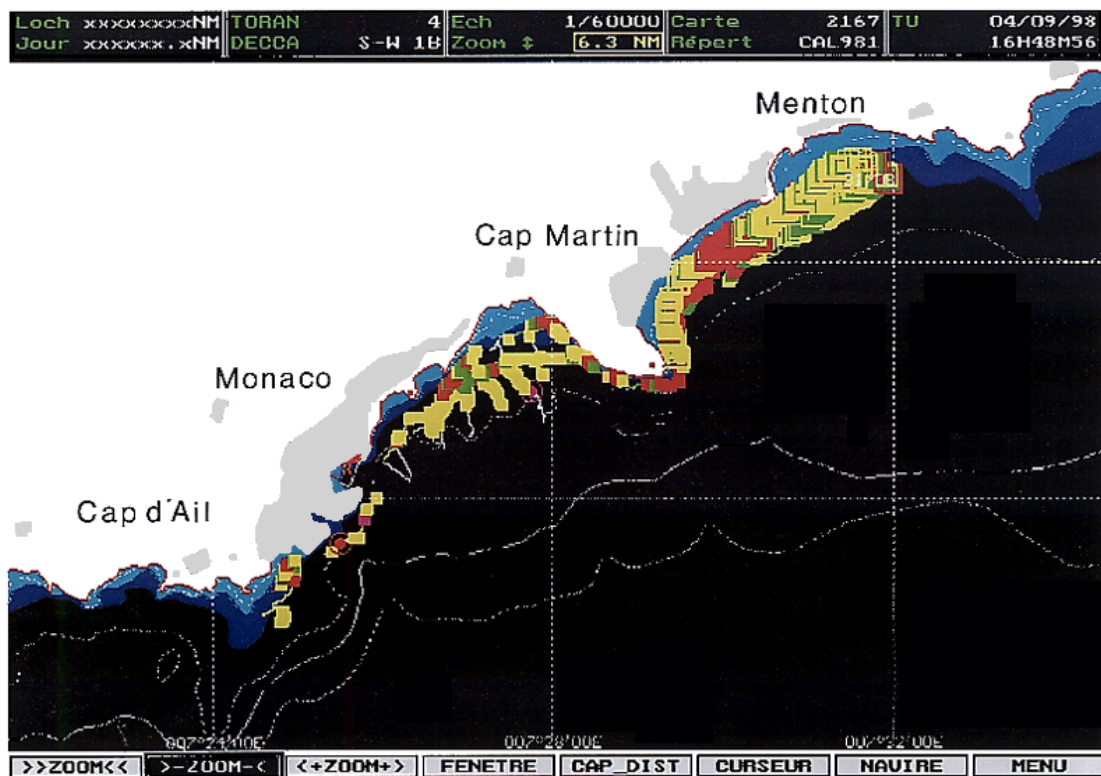


Figure 3. Côtes françaises et côtes monégasques, de Menton au Cap d'Ail : première carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* avec codage suivant trois classes de densité (classe 1 : de 0 à 25% ; classe 2 : de 25 à 50% ; classe 3 : de 50 à 100%).

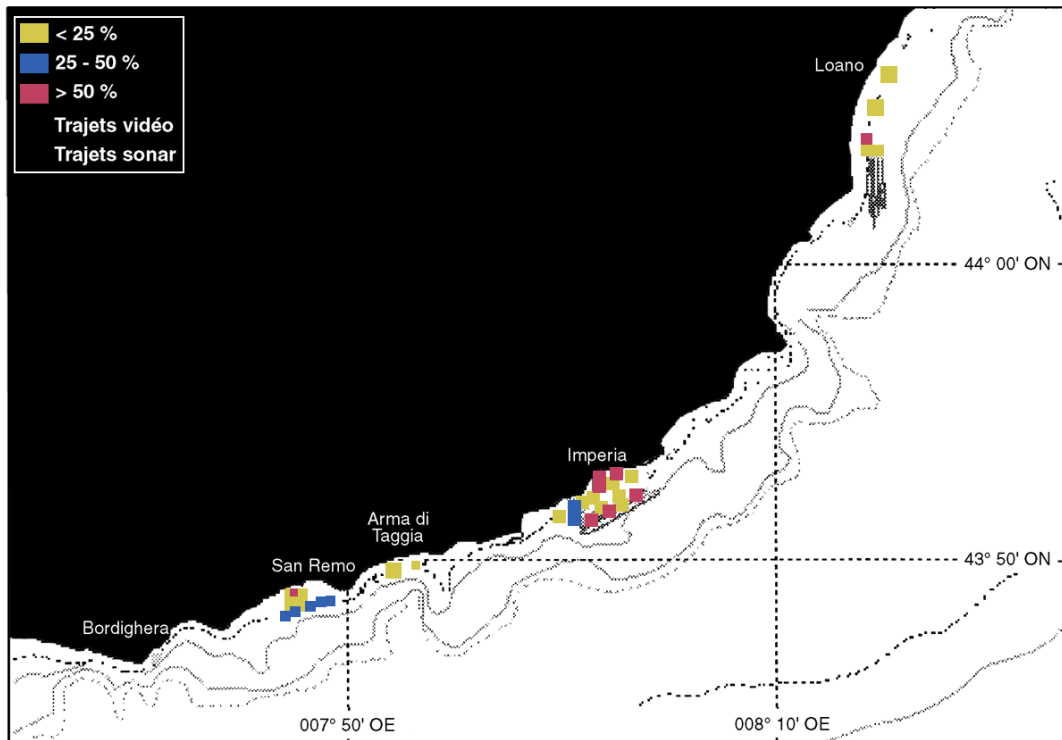


Figure 4a. Côtes de Ligurie, de la frontière franco-italienne à Loano : première carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* avec codage suivant trois classes de densité.

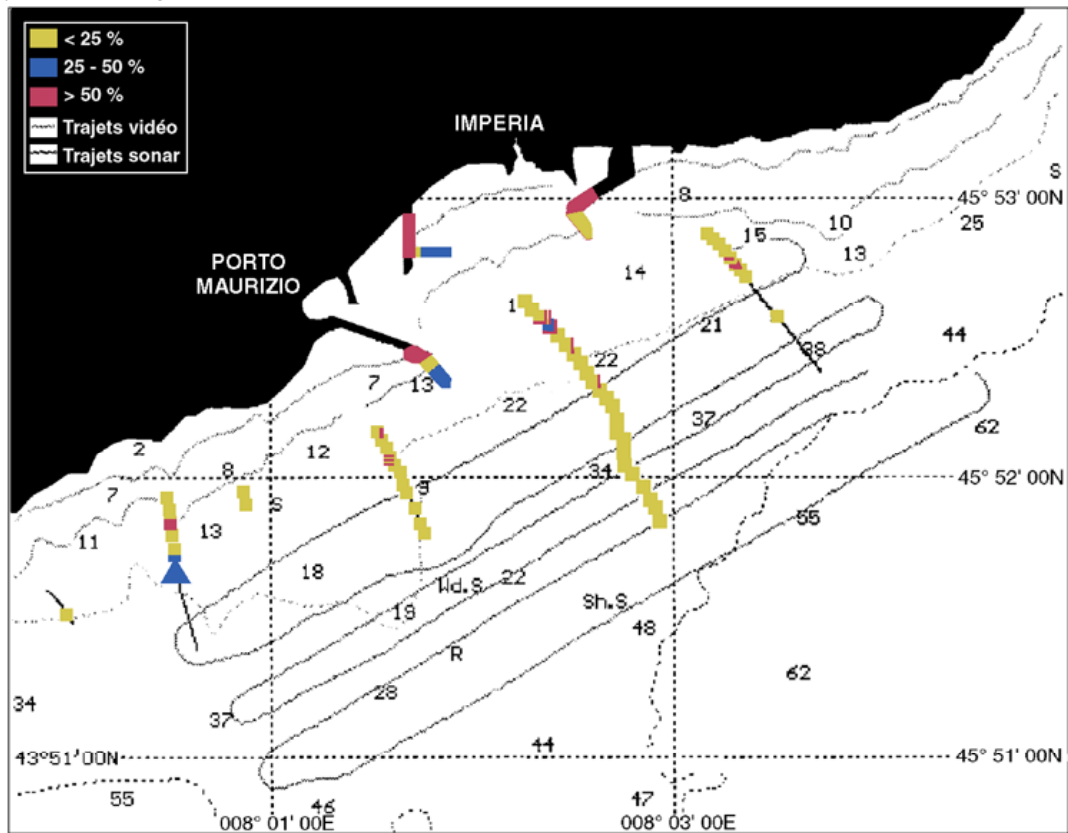


Figure 4b. Côtes de Ligurie, secteur d'Impéria : première carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* avec codage suivant trois classes de densité et indication des trajets effectués par vidéo-tractée et par sonar.

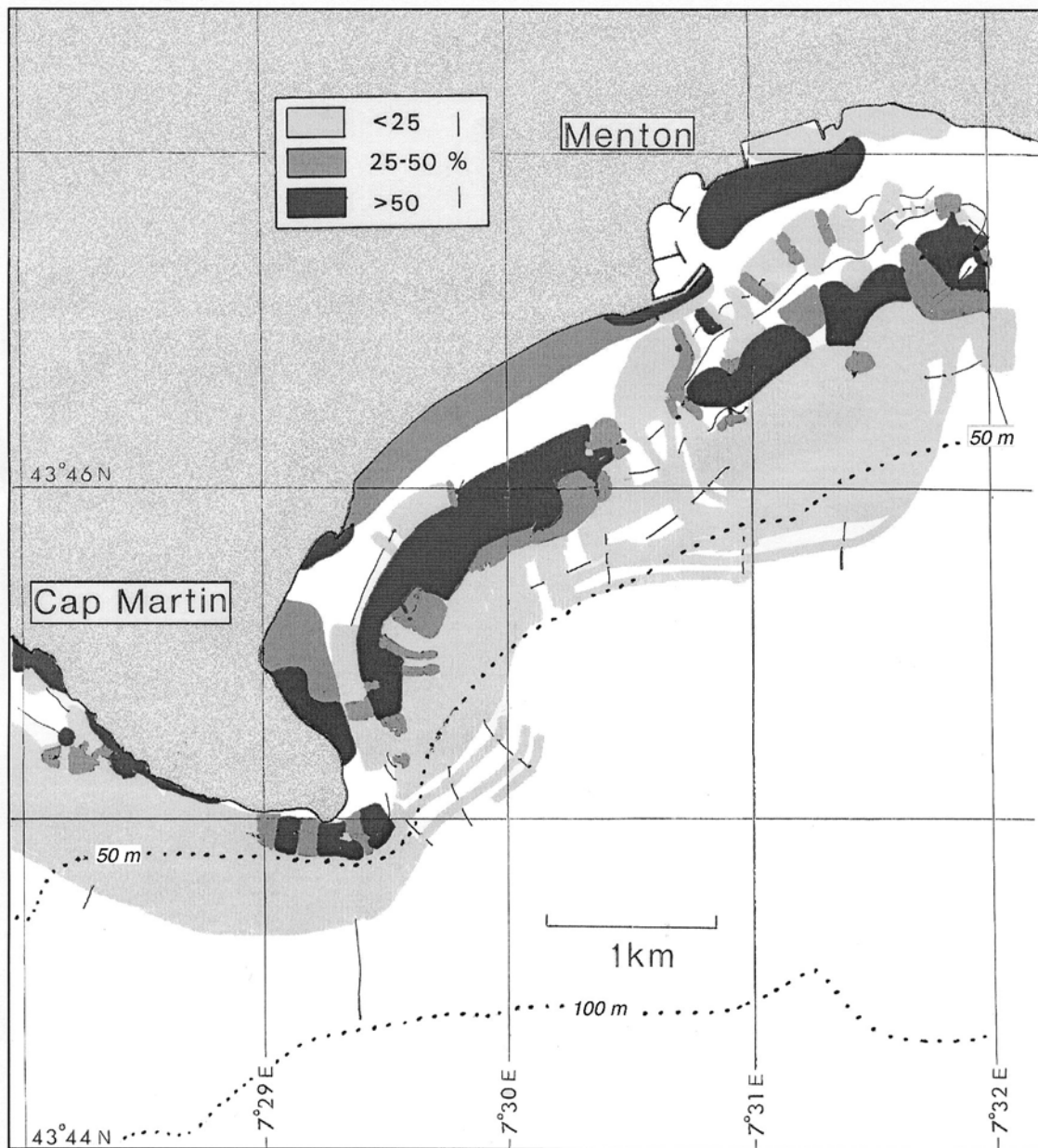


Figure 6. De Menton à la baie de Roquebrune : carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (entre les trajets, les données sont extrapolées, en privilégiant systématiquement la plus faible densité de recouvrement).

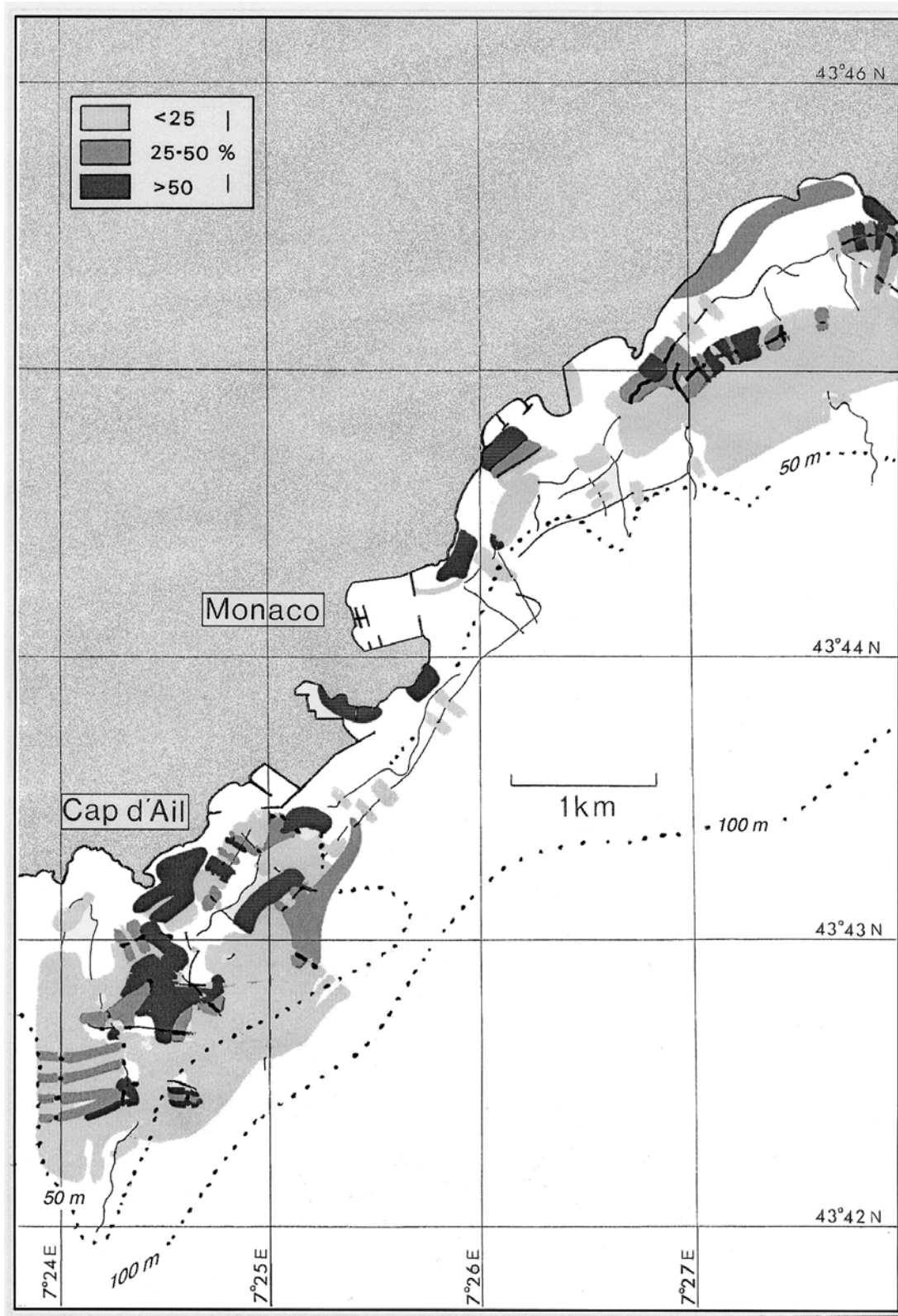


Figure 7. De la baie de Roquebrune au Cap d'Ail : carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (entre les trajets, les données sont extrapolées, en privilégiant systématiquement la plus faible densité de recouvrement).

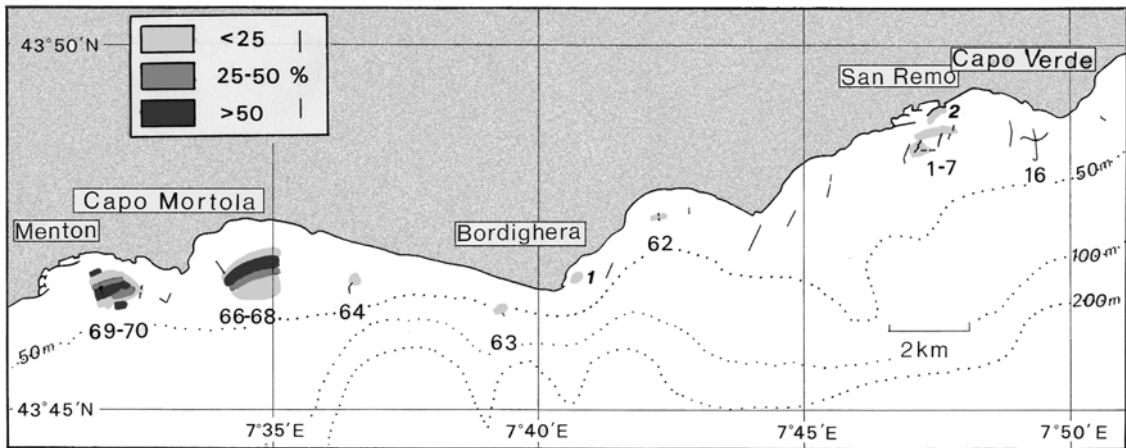


Figure 8. De Menton à Capo Verde : carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (entre les trajets, les données sont extrapolées, en privilégiant systématiquement la plus faible densité de recouvrement).

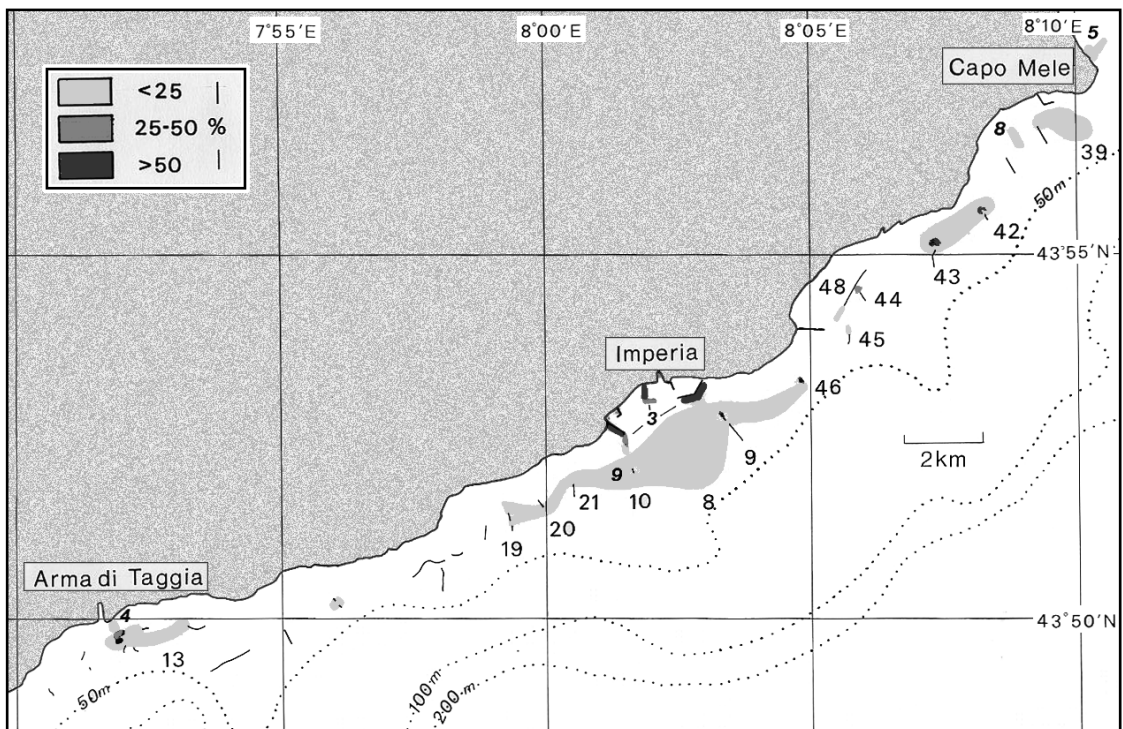


Figure 9. D'Arma di Taggia à Capo Mele : carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (entre les trajets, les données sont extrapolées, en privilégiant systématiquement la plus faible densité de recouvrement).

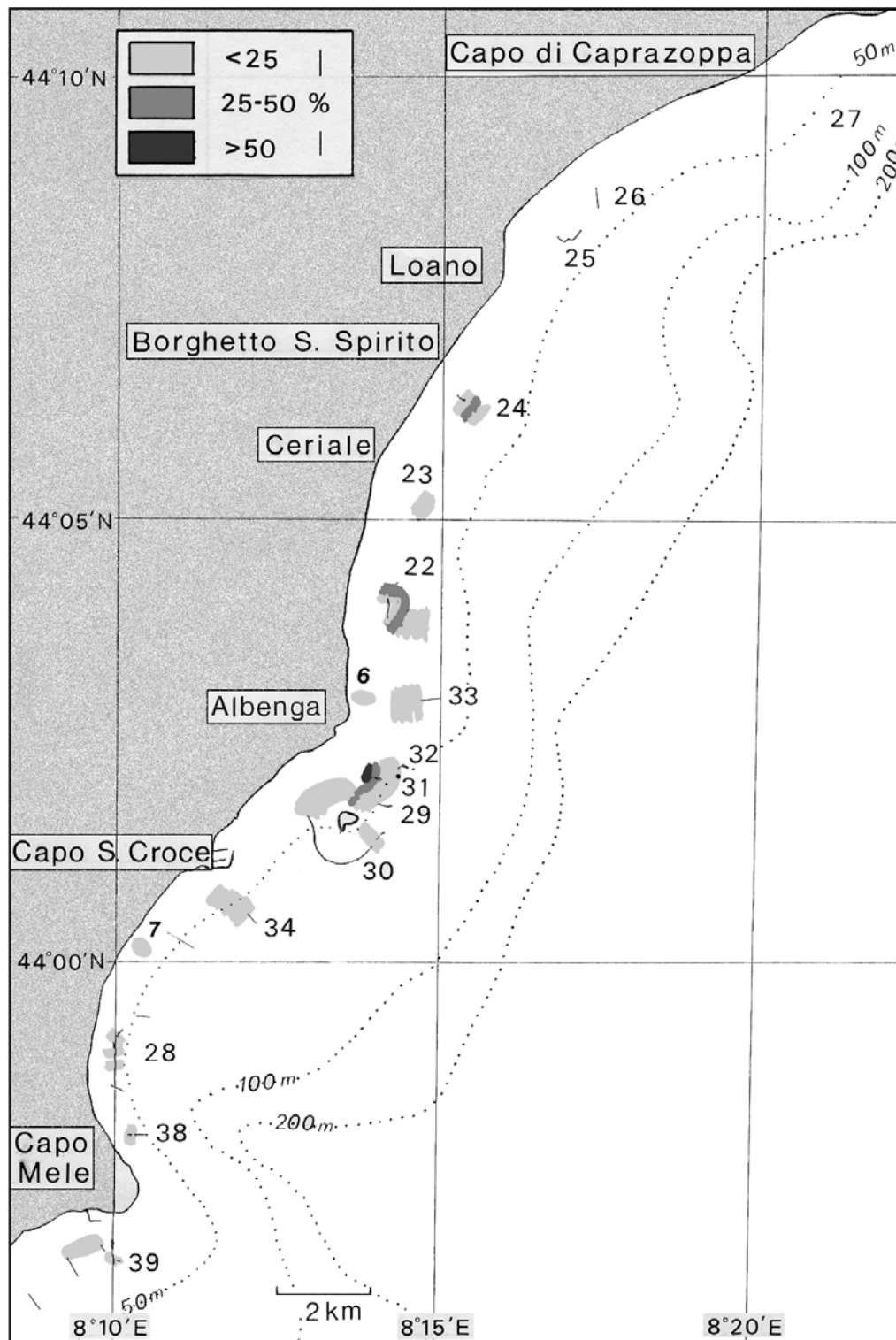


Figure 10. De Capo Mele à Loano : carte de répartition de *Caulerpa taxifolia* regroupant les données obtenues après analyse des trajets effectués par vidéo-tractée et par plongée (entre les trajets, les données sont extrapolées, en privilégiant systématiquement la plus faible densité de recouvrement).

BIBLIOGRAPHIE

BELSHER T., DESLOUS-PAOLI J.M., DAGAULT F., DIMEET J., RAILLARD J.M., EMERY E., BOUTBIEN M., PRUDHOMME C., GRILLO M.C., PUCCI R., VEGLIA A., 1995. Acquisition d'éléments qualitatifs et quantitatifs sur l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en 1995 et 1996 (Alpes-Maritimes et Principauté de Monaco). *Rapport IFREMER / Service de l'Environnement de Monaco*, France : 38 pp + 11 annexes.

BELSHER T., DIMEET J., RAILLARD J.M., EMERY E., BOUTBIEN M., PRUDHOMME C., PUCCI R., 1998. Acquisition d'éléments qualitatifs et quantitatifs sur l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en 1996 (Alpes-Maritimes, Var et Principauté de Monaco). *Third int. workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy. eds., GIS Posidonie publ., France : 33-43.

BELSHER T., HOULGATE E., 2000. Etude des sédiments superficiels marins, des herbiers à phanérogames et des peuplements à *Caulerpa taxifolia* de Menton au Cap d'Ail (France - Principauté de Monaco). IFREMER publ., France : 1-43 + 3 maps.

CINELLI F., CECCHERELLI G., ORESTANO C., IERARDI S., MANGIALAJO L., RELINI M., TUNESI L., MEINESZ A., CHIAVERINI D., COTTALORDA J.M., 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes italiennes de la Méditerranée : situation au 31 décembre 1997. *in : Suivi de l'invasion de l'algue tropicale Caulerpa taxifolia en Méditerranée : situation au 31 Décembre 1997*. MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., CASSAR N., VAUGELAS J. de eds., LEML (UNSA) and GIS Posidonie publ., France : 179-204.

GARNIER S., 1997. Cartographie de l'expansion de *Caulerpa taxifolia*. Campagne CALIFE 96 (Alpes-Maritimes, Var et Principauté de Monaco). *Rapport de stage IFREMER / UBO*, France : 27 pp + 6 annexes.

HILL D., COQUILLARD P., VAUGELAS J. de, MEINESZ A., 1996. Simulation sur ordinateur de l'expansion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. Résultats préliminaires. *Second international workshop on Caulerpa taxifolia*, RIBERA M.A., BALLESTEROS E., BOUDOURESQUE C.F., GOMEZ A., GRAVEZ V. edit., Univ. Barcelona publ., Spain : 119-127.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée : situation au 31 décembre 1996. *Ed. Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis*, France : 190 pp.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., CASSAR N., VAUGELAS J. de, ANTOLIĆ B., BALLESTEROS E., BELSHER T., CECCHERELLI G., CINELLI F., ORESTANO C., GRAU M., JAKLIN A., POU S., SANDULLI R., ŠPAN A., ZAVODNIK N., ŽULEVIĆ A., 1998. Bilan et analyse de la situation de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée à la fin de 1997 *in* Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : situation au 31 décembre 1997. *Ed. Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis*, France : 238 pp.

CARTE DES SÉDIMENTS SUPERFICIELS MARINS, DES HERBIERS À PHANÉROGAMES ET DES PEUPELEMENTS À *CAULERPA TAXIFOLIA*, DE MENTON AU CAP D'AIL, ECHELLE 1/7500 (43°45'N)

Thomas BELSHER ¹ & Eric HOULGATTE ²

¹ IFREMER – Centre de Brest, BP 70, 29263 Plouzané, France

² Bureau d'études géologiques de Brest

RÉSUMÉ

Une carte des sédiments superficiels marins des herbiers à phanérogames et des peuplements à *Caulerpa taxifolia* a été élaborée à la suite des travaux océanographiques effectués de 1995 à 1997 par l'IFREMER, GENAVIR et le Service de l'Environnement de Monaco. Le domaine marin a été renseigné, jusqu'à -100 m, par l'utilisation combinée, dans la limite de leurs possibilités, de plusieurs techniques d'acquisition. Ainsi, sonar latéral, vidéo sous-marine, carottier multitube, photographies aériennes ont été mis à contribution. Une partie du secteur marin monégasque a été renseignée par les données d'I.D. SCOPE (1992), de G. FREDJ, S. DI GERONIMO et G. GAY (1993), et de M. VERLAQUE et G. BERNARD (1998). L'ensemble des isobathes est emprunté des cartes SHOM (6881, 6863, 6953 et 7017). Le domaine terrestre est illustré par une imagerie informatisée issue des photographies aériennes (campagne aéroportée IGN de 1994).

La carte est disponible sur commande au Service des Editions IFREMER, Centre de Brest / BP70, 29280 Plouzané cedex, France.

SUIVI DE L'ÉVOLUTION DE *CAULERPA TAXIFOLIA* DANS LA LAGUNE DU BRUSC (VAR - FRANCE). IMPACT DES ACTIVITÉS HUMAINES

Nardo VICENTE ¹, A.G. LARDEAU ¹, Patrick LELONG ² & J. DESCATOIRE ²

¹ C.E.R.A.M. Faculté des Sciences et Techniques Saint-Jérôme 13397 Marseille cedex 20

² Institut Océanographique Paul Ricard, Ile des Embiez 83140 Six-Fours-les-Plages

ABSTRACT

The lagoon of Le Brusuc (Var-France) is an outstanding ecological site on the French Mediterranean coast. Delimited by Les Embiez island and various islets and open to the northeast toward the port of Le Brusuc; it extends over 42 hectares. It is protected from the dominant winds by the largest relictual barrier reef of *Posidonia oceanica* on the Provençal coast. The bottom of the lagoon is occupied by a dense meadow of the seagrass *Cymodocea nodosa* that is one of the principal spawning site on this coast. *Caulerpa taxifolia* appeared in the lagoon for the first time in November 1992. Fishermen of the port of Le Brusuc reported a patch of about 1 m². The alga had settled 20 m from the shore at a depth of 1 m in the vicinity of a temporary anchorage. The temperature of the water having dropped to 5 °C in February 1993, the alga withered and disappeared. In September 1996 it was again reported, further from the shore, but still in the same area of the temporary anchorage covering a larger area of about 250 m². The more favourable conditions of 1997, and the human activities in the lagoon (angling, wind surfing etc.) caused the dissemination of the alga over about 1700 m². In 1998, the surface occupied was about 2 hectares. This outstanding ecological habitat must be protected and it is essential to regulate the activities on the area occupied by *C. taxifolia*, particularly those that promote its spread (water sports). Experiments have been carried out, in tanks (mesocosms) within and outside an aquaculture dome on the impact of temperature and light. A study of the mobile fauna shows that many species are present in both *Cymodocea nodosa* and *Caulerpa taxifolia*.

RÉSUMÉ

La lagune du Brusuc (Var, Méditerranée, France) est un plan d'eau de faible profondeur occupé par une pelouse de *Cymodocea nodosa*. Délimitée par un archipel d'îles (île des Embiez) et par un récif barrière de *Posidonia oceanica*, elle s'étend sur 42 hectares. De nombreuses activités ont lieu dans la lagune : mouillage forain, pêche à pied, pêche professionnelle, activités nautiques de loisirs (nautisme, planche à voile). *Caulerpa taxifolia* y est apparue pour la première fois à l'automne 1992 sur 1 m² puis a disparue naturellement en février 1993 à cause de températures très basses. Sa seconde apparition, plus importante, a eu lieu à la fin de l'été 1996 avec occupation de 250 m² et une dispersion liée aux activités humaines. De ce fait, *C. taxifolia* a été disséminée en 1997 sur environ 1700 m². En 1998, la surface occupée atteint 2 hectares. L'impact sur l'écosystème apparaît limité et la pelouse de *Cymodocea nodosa* ne semble pas affectée, pour l'instant. Ce milieu écologique exceptionnel méritant d'être protégé, il convient de réglementer les activités dans la zone colonisée par *C. taxifolia*, en particulier pour celles favorisant son expansion (activités nautiques, pêche à pied). Des expériences ont été menées afin d'étudier l'effet de la température et de la lumière sur la croissance de *Caulerpa taxifolia*.

INTRODUCTION

La lagune du Brusç, située au sud du petit port de pêche du Brusç, est protégée à l'est par le massif montagneux du Cap Sicié. L'Archipel des Embiez formé d'écueils, d'îlots et d'îles, constitue également une protection naturelle, au sud et à l'ouest. La baie du Brusç se trouve ainsi à l'abri des tempêtes du sud, par contre elle est largement ouverte vers le nord, et ainsi soumise aux effets du Mistral, plus limités dans la lagune proprement dite (BLANC, 1958). L'ensemble constitue une cuvette où la sédimentation est importante ; elle est liée au vent dominant, le Mistral. La baie du Brusç est protégée, par ailleurs, au nord, par un vaste récif barrière constitué par le front d'émergence de l'herbier à *Posidonia oceanica* (L.) Delile. Ce récif barrière s'étend en direction sud-ouest / nord-est et s'appuie à son extrémité nord-orientale sur la jetée du port du Brusç. Il constitue un brise lame naturel qui atténue les effets des houles dues au Mistral (nord-ouest).

En arrière du récif barrière, une formation lagunaire envasée s'est constituée et se présente comme une vaste étendue dont la profondeur moyenne varie, selon les endroits, entre 0.5 et 1.0 m par rapport au niveau moyen de la mer (DEGUEN & MOLINIER, 1961 ; DUFOUR & MOLINIER, 1961 ; MOLINIER, 1961). Un peuplement à *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, occupe la lagune presque en totalité ; il est installé sur un sol constitué de sable grossier plus ou moins envasé (TRUE-SCHLENZ, 1965). La température du plan d'eau suit globalement celle de l'air, mais l'apport d'eau du large amortit l'influence des conditions météorologiques.

Ces conditions géographiques et géologiques (sédiments riches en matière organique) très spécifiques confèrent à la lagune un intérêt écologique incomparable (VICENTE, 1973, 1975). Ses caractéristiques physiques et chimiques favorables ont permis le développement de vastes herbiers de phanérogames et l'installation d'une faune associée particulièrement riche.

En novembre 1992, les pêcheurs du Brusç ont signalé une tache de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, à 20 m du rivage, au niveau d'un mouillage forain. Début février 1993, en raison des températures très basses, cette tache de 1 m² environ a disparu (VICENTE *et al.*, 1993). Au début de l'automne 1996, *C. taxifolia* a été de nouveau observée à 100 m environ de la première tache et toujours au voisinage du mouillage forain, dans le chenal de navigation. Elle couvrait alors une surface de 250 m². Son évolution dans la lagune a été suivie en tenant compte des paramètres température et luminosité. Une expérimentation a également été réalisée en milieu naturel et dans des bacs de 1 m³ (mésocosmes), installés à terre à l'air libre et sous une serre aquacole.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Quatre bacs en PVC, de 1 m³, sont utilisés pour les expériences. Deux sont installés sous une serre, et les deux autres sont placés à l'extérieur. Ils contiennent du sable prélevé dans la lagune, et des fragments de *Caulerpa taxifolia* sont implantés dans le sable.

Les températures de l'air et de l'eau sont mesurées quotidiennement dans la lagune ainsi que dans les bacs expérimentaux alimentés par l'eau de la lagune. Un système de régulation de la température par thermoplongeur permet d'éviter les très basses températures hivernales dans certains bacs, mais aussi de limiter les fortes amplitudes thermiques entre le jour et la nuit. La luminosité est mesurée dans les mêmes lieux à l'aide d'un luxmètre.

Des échantillons de *Caulerpa taxifolia* sont prélevés 2 fois par mois. Les stolons et les frondes sont mesurés, les épiphytes sont comptés (VICENTE *et al.*, 2001), et les modifications de l'algue décelable à l'oeil nu sont notées. Des prélèvements de la faune vagile sont réalisés par fauchage à l'aide de filets à mailles fines (type moustiquaire), munis d'un arceau métallique et d'un manche, selon la méthode de LEDOYER (1962). Ils sont effectués, afin de les comparer, dans l'herbier à *Cymodocea nodosa* et dans les zones colonisées par *Caulerpa taxifolia*.

RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

1- Dissémination de *Caulerpa taxifolia* dans la lagune

Contrairement à la première observation de *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusac en 1992, la nouvelle colonie observée à partir septembre 1996 est beaucoup plus importante. L'hiver suivant ayant été plus clément, malgré quelques chutes de température épisodiques, *C. taxifolia* s'est maintenue et a ensuite proliféré. Ainsi, le suivi régulier montre que la tache principale est passée de 250 m² au mois de septembre 1996, à plus de 1500 m² sur une surface d'un hectare environ en août 1997, et à 2000 m² sur deux hectares en octobre 1998. Cette expansion concerne la zone principale du chenal de navigation qui s'étend vers le sud-ouest (fig. 1).

De plus, de nombreuses taches secondaires (< 1 m²) et de petites touffes isolées sont dispersées au-delà de cette zone. Cette dissémination est imputable au piétinement incessant des pêcheurs à pied, et surtout des véliplanchistes débutants qui bénéficient dans la lagune d'un site idéal pour l'apprentissage de ce sport. Durant la saison estivale, on en compte jusqu'à une cinquantaine sur le plan d'eau. Le piétinement de la tache principale provoque la fragmentation des stolons et des frondes. Les boutures sont ensuite transportées par les courants sur l'ensemble du plan d'eau. L'expansion "naturelle" de *Caulerpa taxifolia* dans un site, telle qu'elle peut être observée dans les autres zones colonisées par *C. taxifolia*, est ainsi très fortement accentuée.

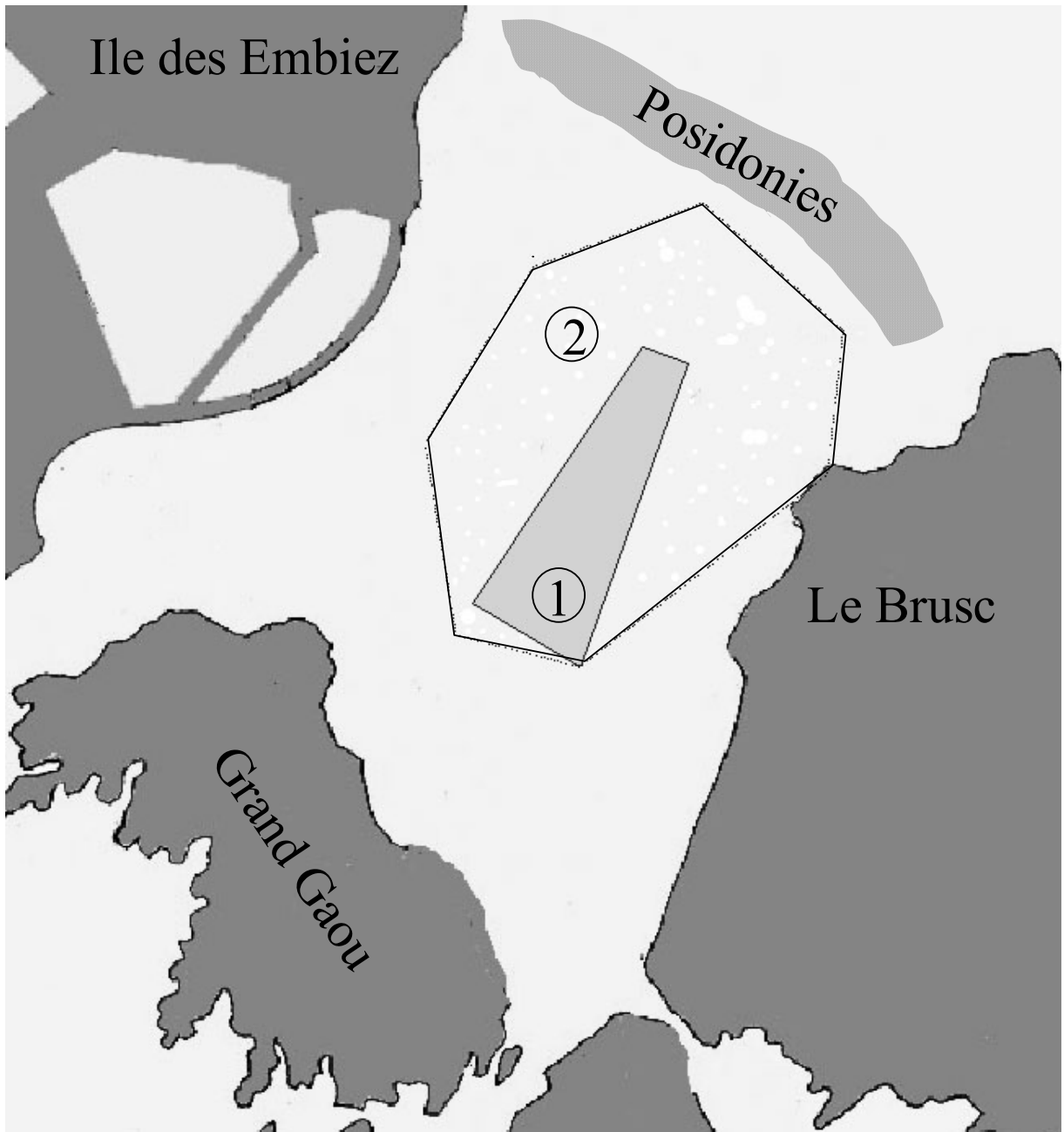


Figure 1. Expansion de l'algue *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brus. 1 : zone très atteinte, balisée et interdite à la navigation (3.7 ha ; arrêté préfectoral du 10 août 1998). 2 : zone atteinte totale (17.9 ha) constituée de nombreuses colonies.

Afin de réduire ces effets, un balisage interdisant la pénétration dans la zone centrale a été demandé aux Affaires Maritimes. Il a été mis en place par les soins de la municipalité voisine, à la fin de la saison estivale 1998 (arrêté préfectoral n°62/98). L'écosystème ainsi protégé, est en bien meilleure santé, et sert de refuge à de nombreuses espèces d'invertébrés (Gastéropodes, Annélides), et de Poissons.

2- Effets de la température

En période hivernale, l'évolution de *Caulerpa taxifolia* dans la lagune et dans les bacs est très différente. Dans la lagune, par petits fonds, les frondes sont nécrosées et blanchies. Dans le chenal de navigation il persiste quelques frondes verdâtres et rabougries, malgré des températures chutant temporairement à 5 °C (fig. 2).

Dans les bacs extérieurs, non thermorégulés la dégénérescence de *Caulerpa taxifolia* est totale, la température de l'eau pouvant tomber à 2.8 °C. Malgré l'élévation de la température au printemps, les stolons ne se régénèrent pas. La température de l'eau des bacs extérieurs, montre une amplitude thermique supérieure à celle de la lagune et notamment des minima plus bas en période hivernale.

Sous la serre, dans les bacs en eau thermorégulée, *Caulerpa taxifolia* supporte bien les rigueurs de l'hiver. Le maintien de la température de l'eau à 11 °C durant la période hivernale, malgré la nécrose de l'apex des frondes, assure la continuité végétative.

D'après KOMATSU *et al.* (1994), *C. taxifolia* semble plus sensible à une longue période froide qu'à une chute des températures, même beaucoup plus sévère, mais de courte durée. Toutefois, *C. taxifolia* étant dotée d'importantes capacités d'acclimatation, la réponse métabolique de l'espèce peut varier selon les sites (GAYOL & FALCONETTI, 1996).

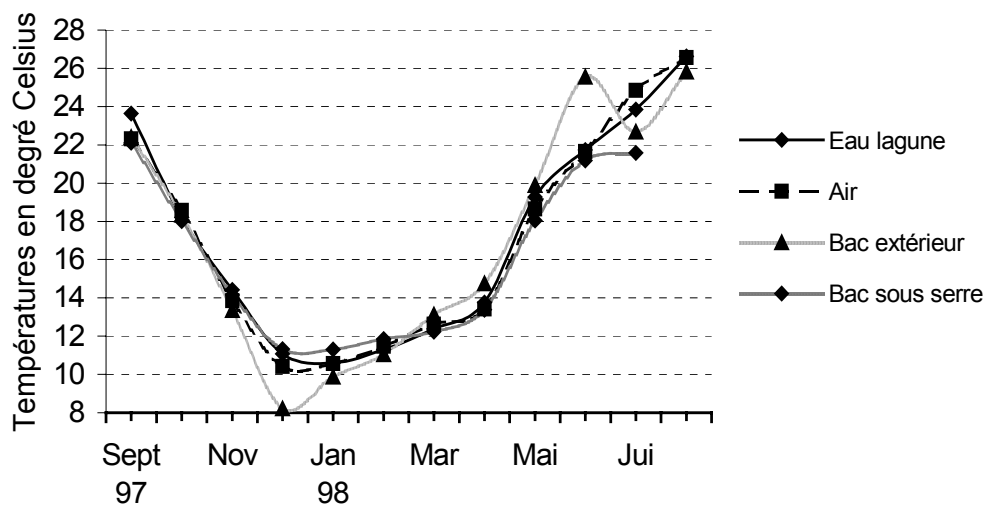


Figure 2. Variations des températures de l'eau de la lagune, de l'air, de l'eau des bacs extérieurs et sous serre, au cours de l'expérimentation.

3- Influence de la lumière

Les échantillons de *Caulerpa taxifolia* conservés sous serre, avec une lumière plus atténuée sont plus vigoureux et présentent une morphologie plus charnue que ceux des bacs extérieurs exposés à une intensité lumineuse presque dix fois supérieure. Cet éclairage intense est nuisible à *C. taxifolia* qui dégénère au printemps, au moment où

les conditions thermiques redeviennent favorables et où une reprise se produit dans le milieu naturel. Une nécrose importante des frondes a lieu ; ce phénomène est également vérifié en mer ouverte, puisque *C. taxifolia*, dans les zones soumises à une forte luminosité au printemps et en été, présente des densités plus faibles (KOMATSU *et al.*, 1994).

D'autre part, avec un éclairage de surface direct, la pousse de *Caulerpa taxifolia* est limitée, alors qu'à 0.5 m de profondeur et avec une lumière indirecte, la croissance est beaucoup plus importante. En tout état de cause, c'est sous serre qu'elle est maximale. Au mois de mai, lorsque la luminosité présente la plus grande différence entre l'extérieur et l'intérieur de la serre (fig. 3), les frondes de *C. taxifolia* située dans les bacs extérieurs sont réduites ou rabougries, et mesurent 3 à 8 cm de longueur. Celles des bacs sous serre sont normales et en pleine croissance (15 à 17 cm). A cette période, dans la lagune, où la luminosité est intense à cause de la faible profondeur, les frondes ont une longueur moyenne de 12 cm.

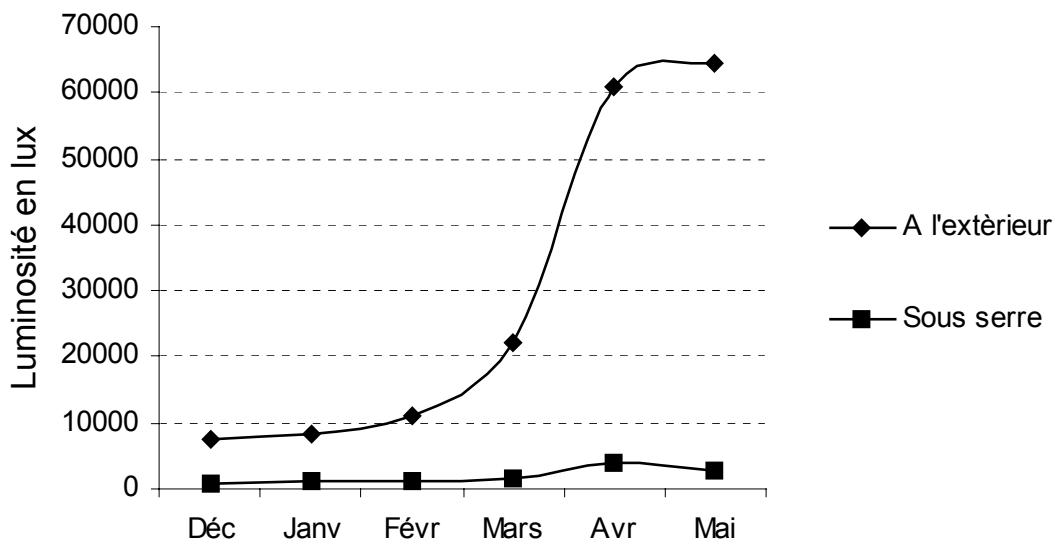


Figure 3. Variation de la luminosité dans les deux cas expérimentaux, à l'extérieur et sous serre.

4- Impact de *Caulerpa taxifolia* sur l'écosystème en place

La pelouse de *Cymodocea nodosa* colonisée par *Caulerpa taxifolia* sur 2 ha ne semble pas être perturbée par sa présence. Son cycle s'est déroulé normalement depuis son implantation. Les faisceaux foliaires sont aussi nombreux à la périphérie que dans la zone colonisée. Ils sont composés de 2 à 3 frondes de taille moyenne identique (22 ± 1 cm). Elles dépassent largement les thalles de *C. taxifolia* en pleine saison estivale.

En hiver *Caulerpa taxifolia* et *Cymodocea nodosa* sont en sommeil. Les jeunes pousses de *C. nodosa* apparaissent et sont recouvertes par la litière de Posidonies du récif-barrière voisin, alors que les frondes de *C. taxifolia* sont nécrosées.

Mi-avril, les températures élevées dues au régime anticyclonique peuvent atteindre 22 °C. On assiste alors au développement important des jeunes pousses sur les anciens stolons (les frondes mesurent de 3 à 4 cm) souvent dissimulés sous les algues filamenteuses, elles aussi en expansion. La repousse de *Cymodocea nodosa* se fait dans les mêmes conditions aussi bien en présence de *Caulerpa taxifolia* que dans les zones non colonisées. Lorsque les deux espèces cohabitent, il n'y a jamais intrication des rhizomes de la phanérogame et des stolons de l'algue. Les feuilles de *C. nodosa* dépassent les frondes de *C. taxifolia*. et commencent à se recouvrir d'épiphytes.

La faune benthique associée est composée de mollusques dont le cycle de vie se déroule dans la lagune. C'est le cas notamment de trois gastéropodes opisthobranches (VICENTE, 1973) :

- *Aplysia punctata*, gastéropode phytophage qui peut se nourrir de *Caulerpa taxifolia* (TAIEB *et al.*, 1994 ; TAIEB & VICENTE, 1996) et qui s'installe aussi bien sur les frondes de *Cymodocea nodosa* que sur les frondes de l'algue au printemps.

- *Haminaea navicula*, gastéropode détritivore qui rampe dans le sédiment entre les rhizomes ou les stolons et qui dépose sa ponte aussi bien sur *C. nodosa* que sur *C. taxifolia*.

- *Elysia viridis*, Ascoglosse phytophage qui consomme *C. taxifolia*.

On trouve également les annélides *Aricia foetida* et *Arenicola claparedi*.

Dans les bacs expérimentaux, *Caulerpa taxifolia* est broutée par des crustacés amphipodes (*Gammarus* sp.) et isopodes (*Sphaeroma* sp.) qui s'attaquent essentiellement aux pinnules des frondes. Une étude préliminaire de la faune vagile montre que les mêmes espèces sont présentes dans *Cymodocea nodosa* et *C. taxifolia* (tab. I). Cependant, les principales espèces caractéristiques comme le mollusque gastéropode *Tricolia pulla* sont toujours plus abondantes dans *C. nodosa* que dans *C. taxifolia*. Au contraire, l'abondance du crustacé décapode *Athanas nitescens* est supérieure dans *C. taxifolia* au début de l'automne.

En conclusion, l'impact de *Caulerpa taxifolia* sur l'écosystème en place, déjà très altéré par la pression humaine, apparaît très limité pour l'instant. Une étude plus approfondie sera conduite avec la mise en place d'un carré permanent, et une comparaison entre la faune vagile et la faune benthique implantées dans *Cymodocea nodosa* et *Caulerpa taxifolia* sera poursuivie.

Tableau II. Faune vagile présente dans *Caulerpa taxifolia* (C.t) et *Cymodocea nodosa* (C.n).

Faune vagile	15/05		03/09		23/09		6/10		22/10		05/11	
	C. t	C.n	C. t	C.n	C. t	C.n	C. t	C.n	C. t	C.n	C. t	C.n
CNIDAIRES												
Actiniaires												
<i>Parastephanange pauxi</i>	1	1	1				1	1		1	1	
ANNELIDES												
<i>Nereis</i> sp.								3		4		1
<i>Sabella</i> sp.								1				
MOLLUSQUES												
<u>Gastéropodes (Prosobranches)</u>												
<i>Conus mediterraneus</i>	1											
<i>Cerithium mediterraneum</i>		4		5	1	1				4		
<i>Gibbula adamsoni</i>	3	15	15	15	4	3	4	10	32	67	11	11
<i>Gibbula</i> sp.				4						51		
<i>Rissoa</i> sp.				1		4		4	1		1	17
<i>Tricolia pulla</i>	2	6	6	42	17	41	5	22	4	46	18	35
<i>Nassa</i> sp.			1	4	1					6		
<i>Columbella mediterranea</i>	2				1	4				5		2
<i>Jujubinus</i> sp.		1										
<i>Bittium reticulatum</i>			2	7	3	5	4	5	2	21	2	4
<i>Monodonta turbinata</i>									2			
<u>Gastéropodes (Opisthobranches)</u>												
<i>Aplysia punctata</i>	1											1
<i>Hypselodoris messinensis</i>								1				1
<i>Hypselodoris tricolor</i>												
<i>Dendrodoris limbata</i>											1	
Bivalves												
<i>Cerastoderma glaucum</i>				1			1					
<u>Crustacés Isopodes</u>												
<i>Cymodoce truncata</i>	1	2	1	8		10	3	3	3	14		2
<i>Synisoma</i> sp.		1										
<u>Amphipodes</u>												
<i>Lysianassa longicornis</i>	5	1	5		2	40	1	76	9	57	3	19
<i>Maera</i> sp.							8					
<i>Caprella</i> sp.									1	4	2	1
<u>Décapodes Galathea</u>												
<i>Upogebbia</i> sp.	2			1								
<i>Athanas nitescens</i>	1		18	10	10	4	2	3	8	6		2
<i>Hippolyte gracilis</i>	1	1	1		5			4	13	10	2	7
<i>Palaemon</i> sp.					3							
<i>Peneus</i> sp.												
ECHINODERMES												
Ophiurides :												
<i>Amphipholis squamata</i>		1	3	5	4	9	20	6	8	26		1
Holothurides										1		
<i>Holothuria forskali</i>	1											
POISSONS												
<i>Syngnathus</i> sp.		1	3	3	1	3	1			1		
<i>Parablennius rouxii</i>	1				1		1		1		1	
<i>Gobius</i> sp.												
INSECTES												
Larves de Chironome								3				

BIBLIOGRAPHIE

BLANC J.J., 1958. Recherches de sédimentologie littorale et sous-marine en Provence occidentale. *Annals Inst. océanogr.*, Paris, France 35 : 1-40.

DEGUEN F., MOLINIER R., 1961. Etudes écologiques et biocénétiques dans la baie du Brusuc (Var). I. Les sols phanérogoniques de la formation lagunaire du Brusuc (Var). *Bull. Inst. océanogr.*, Monaco 58 (1197) : 1-50.

DUFOUR M., MOLINIER R., 1961. Etudes écologiques et biocénétiques dans la baie du Brusuc (Var). II. Eléments de pédologie dans le port du Brusuc (Var). *Bull. Inst. océanogr.*, Monaco, 58 (1199) : 1-27.

GAYOL P., FALCONETTI C., 1996. Effets des conditions de culture sur la production primaire de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C.Agardh mesurée à trois températures différentes. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. (eds), Univ. Barcelona Publ., Spain : 203-207.

KOMATSU T., MEINESZ A., BUCKLES D., 1994. Données préliminaires sur l'influence de la température et de la lumière sur le développement et la croissance de *Caulerpa taxifolia* en culture. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. (eds), GIS Posidonie Publ., France : 301-307.

LEDOYER M., 1962. Etude de la faune vagile des herbiers superficiels de Zostéracées et de quelques biotopes d'algues littorales. *Recl. Trav. Stn. mar. Endoume* 39 (25) : 117-235.

MOLINIER R., 1961. Etudes écologiques et biocénétiques dans la baie du Brusuc (Var). Généralités. But des recherches. *Bul. Inst. océanogr.*, Monaco, 58 (1194) : 1-8.

TAÏEB N., VALLS R., VICENTE N., 1994. Histophysiologie de la glande digestive de *Aplysia punctata* (Cuvier) nourrie avec *Caulerpa taxifolia*. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. (eds), GIS Posidonie Publ., France : 251-255.

TAÏEB N., VICENTE N., 1996. Ultrastructure des cellules de la glande digestive de *Aplysia punctata* nourrie avec *Caulerpa taxifolia*. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. (eds), Univ. Barcelona Publ., Spain : 315-321.

TRUE-SCHLENZ R., 1965. Données sur les peuplements des sédiments à petites phanérogames marines (*Zostera nana* et *Cymodocea nodosa*) comparées à ceux des habitats voisins dépourvus de végétation. *Recl. Trav. Stn. mar. Endoume* 39 (55) : 97-119.

VICENTE N., 1973. Intérêt écologique de la lagune du Brusuc. *Bull. Observatoire Mer* 1 (Suppl.1) : 12pp.

VICENTE N., 1975. La lagune du Brusuc et l'aquaculture. *Bull. Observatoire Mer* 2 (Suppl. 6) : 12 pp.

VICENTE N., TAÏEB N., LELONG P., 1993. Disparition naturelle de l'algue *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusuc (Var - France). *Mar. Life* 3 (1-2) : 61-65.

VICENTE N., LARDEAU A.G., RIVA A., DESCATOIRE J., 2001. Foraminifères épiphytes de *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusuc (Var - France). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 204-213.

MAP OF *CAULERPA TAXIFOLIA* AROUND IMPERIA (ITALY)

Giovanni TORCHIA, Giovanni PALANDRI, Chantal CIMA, Marco RELINI & Giulio RELINI

Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale. Dip. Te. Ris., Università di Genova, via Balbi 5, 16126 Genova.

ABSTRACT

The bottoms between Borgo Prino and Capo Berta (Imperia) down to 50 m depth were investigated by means of video recordings along 27 transects perpendicular to and 2 parallel to the coast, scuba diver observations and 70 samples collected by grab. At present (June 1998) the alga *Caulerpa taxifolia* is distributed in several zones at different densities between Borgo Prino and Capo Berta and down to 40 m depth. Large and dense *Posidonia oceanica* meadows are not invaded though the alga seems capable of spreading. At other sites *Posidonia oceanica* and *Caulerpa taxifolia* are mixed; *C. taxifolia* seems to prefer to settle on dead "matte". A total area of 25.8 km² was mapped, 4.6 km² of which proved to be colonized by *C. taxifolia*. A map of the main biocoenoses of the area and another showing the density of *C. taxifolia* are given.

RÉSUMÉ

Les fonds, entre Borgo Prino et Capo Berta (Imperia), ont été étudiés jusqu'à 50 m de profondeur, par vidéo tractée le long de 27 transects perpendiculaires et 2 transects parallèles à la côte, en plongée sous-marine et par la récolte de 70 échantillons. En juin 1998, l'algue *Caulerpa taxifolia* était présente dans plusieurs zones entre Borgo Prino et Capo Berta, à des densités différentes et jusqu'à 40 m de profondeur. Les grands herbiers dense à *Posidonia oceanica* ne sont pas colonisés par l'algue et semblent être en progression. Dans d'autres sites, *Posidonia oceanica* et *Caulerpa taxifolia* sont mélangées. *C. taxifolia* semble préférer les substrats de matte morte. Au total, 25.8 km² ont été cartographiés dont 4.6 km² sont colonisés par *C. taxifolia*. Deux cartes du secteur sont présentées dans ce travail : une des biocénoses dominantes et une présentant les densités de *C. taxifolia*.

INTRODUCTION

The allochthonous green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh was recorded for the first time in Italian waters at Imperia (RELINI & TORCHIA, 1992) only in two small basins between the city's two main harbours. Since then there has been no detailed mapping of the marine area off Imperia. It is therefore important to map the marine biocoenoses between Borgo Prino and Capo Berta, to determine the present distribution of *C. taxifolia*, its interaction with other biocoenoses and to establish a reference point for the future monitoring of any possible spread of this allochthonous alga.

MATERIAL AND METHODS

During May and June 1998, an area covering 25.8 km², from the shore to a depth of 50 m, was mapped out along 27 transects (identified from fixed points on land) perpendicular to the coastline, and 2 transects parallel to the coastline, using a boat equipped with a video camera. The video camera, equipped with a depth meter and hooked up by cable (100 m) to a control panel and a television recording system on board the boat, made it possible to film the seabed under investigation. Film records were examined and 4 classes of algal cover considered (< 25 %; 26 %-50 %; 51 %-75 %; > 76 %). To complete the video information and allow classification of the various biocoenoses, 70 samples were also collected by grab and checks were carried out by scuba divers. The graphic representation adopts the standard system suggested by MEINESZ *et al.* (1983) for biocoenosis symbols and by VAUGELAS *et al.* (1998) for *C. taxifolia* symbols. Using a planimeter values were calculated in m², of the four percentage classes of *C. taxifolia*, and of the “atteinte” surface area of the alga (VAUGELAS *et al.*, 1998).

RESULTS

The following biocoenoses were observed in the area under study: fine, well-sorted sand (SFBC), *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson meadow, *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow, coastal detritic (DC), sciaphilous infralittoral biocoenoses on rocks, photophilous infralittoral biocoenoses on rocks. In addition, there are large areas colonized by the alga *C. taxifolia* throughout the study area (fig. 1).

At the moment the *Posidonia oceanica* meadow, present in the western section, shows only minimal signs of colonization by the alga and shows an extremely deep lower limit for the Ligurian coasts (34 m in depth). On the other hand, the *P. oceanica* meadow of the eastern section is fragmented and often mixed with *C. taxifolia*. *Cymodocea nodosa* is present down to 15-20 m depth and is often mixed with *C. taxifolia*. In some exposed areas (near the ports, near Borgo Prino) the shallower depths are dominated by *C. nodosa*.

Beyond the lower limit of *Posidonia oceanica*, the coastal detritic biocoenosis is present throughout the study area. This biocoenosis is often affected by the presence of *C. taxifolia*.

Caulerpa taxifolia affects a total area of 4 586 000 m² of sea bed, most of which is colonized by low densities of the alga (< 25 %; tab. I). Higher densities (up to 100 %) were registered on smaller areas of dead mattes and on protected sites, such as inside ports. Isolated colonies of the alga have been observed down to 50 m depth (fig. 2).

An estimation of the “atteinte” surface area obtained by identifying the area affected by the peripheral colonies shows it to be 3 times greater than the area effectively colonized by *C. taxifolia* (tab. I).

Table I. Values in m² of the surface covered by the alga *Caulerpa taxifolia* on bottoms off Imperia.

COVERED SURFACE	
Class < 25 %	3 870 000 m ²
Class 26-50 %	303 000 m ²
Class 51-75 %	200 000 m ²
Class > 76 %	213 000 m ²
Total covered surface	4 586 000 m ²
“atteinte” surface	17 800 000 m ²

CONCLUSIONS

Any comparisons based on reports of algae sightings are difficult, because the maps offered are lacking in detail. One possible hypothesis is that the first areas to be colonized were ports (RELINI & TORCHIA, 1992), from which *Caulerpa taxifolia* spread to affect large areas of the bottoms off Imperia. In December 1994 the presence of the alga was registered throughout the zone off Imperia up to depths of 20 m (MORUCCI *et al.*, 1996). The present study has observed *C. taxifolia* also at lower depths (down to 50 m) which seems to indicate that in the four years since then there has been an expansion of the alga into deeper waters. The predilection of *C. taxifolia* for dead matte areas and a few sheltered areas has been observed. During the winter the fine well-sorted coastal sands seem to be too unstable as substrate for *C. taxifolia* which is uprooted by rough seas. In these areas *C. nodosa*, with its more resistant roots, proves to be dominant. The presence of obstacles on the seabed (relics, rocks) often provides a basis for stray fragments of *C. taxifolia* which are able to settle and form a new platform for propagation. Interestingly, the *P. oceanica* meadow to the west is in a good state of health.

By using photographs to identify fixed points on land, this study can be repeated in future to monitor whether there has been any increase in the spread of *C. taxifolia* cover.

Acknowledgments: The research was partially financed by the Regione of Liguria.

REFERENCES

MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., FALCONETTI C., ASTIER M., BAY D., BLANC J.J., BOURCIER M., CINELLI F., CIRIK S., CRISTIANI G., DI GERONIMO I., GIACCONE G., HARMELIN J.G., LAUBIER L., LOVRIC A.Z., MOLINIER R., SOYER J., VAMVAKAS C., 1983. Normalisation des symboles pour la représentation et la cartographie des biocénoses benthiques littorales de Méditerranée. *Ann. Inst. océanogr.*, Paris, France, 59 (2) : 155-172.

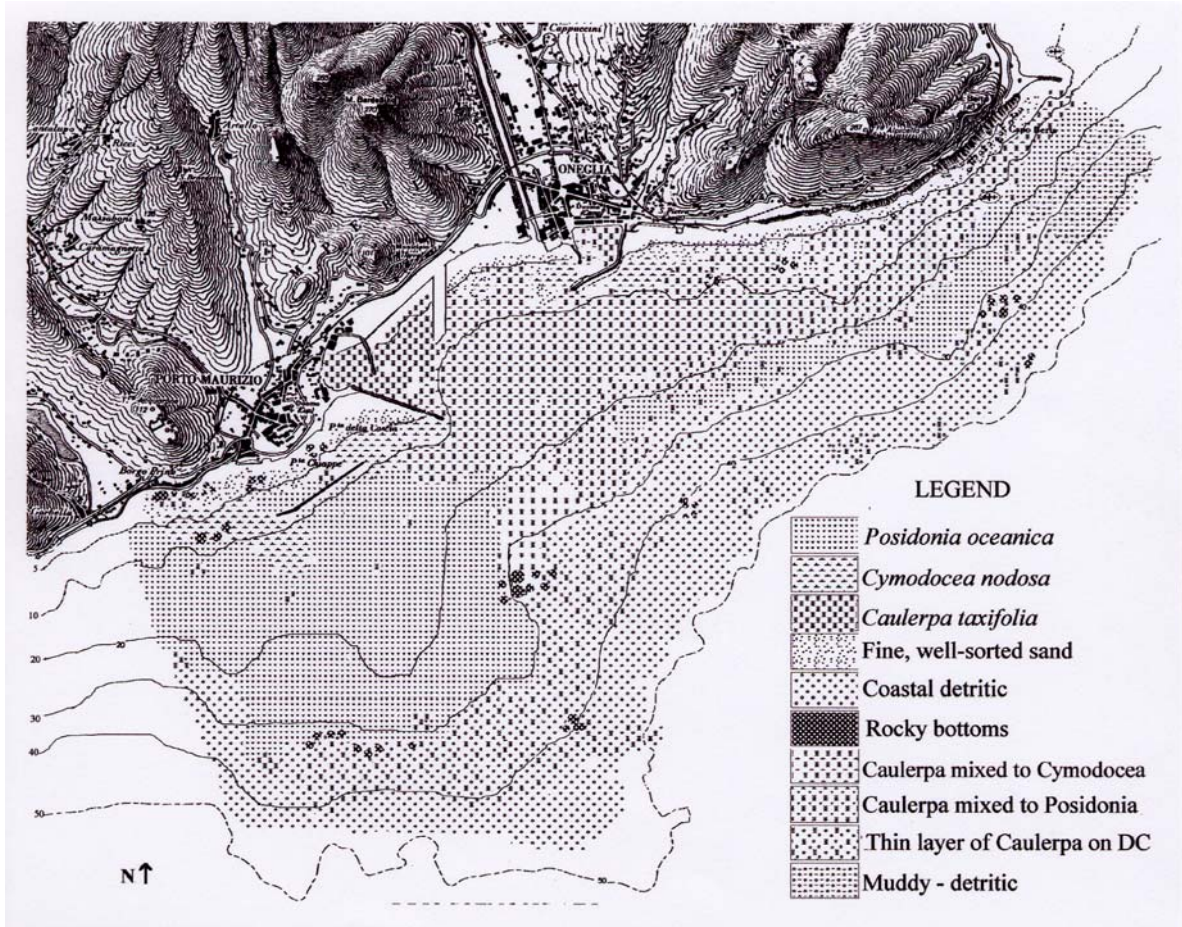


Figure 1. Mapping of marine biocoenosis at Imperia.

MORUCCI C., SANDULLI R., TRIPALDI G., CINELLI F., CECCHERELLI G., AUSTONI M., LAVELLI L., 1996. Latest data on the spread of *Caulerpa taxifolia* along the western Ligurian Coasts. *Second Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A. & Gravez V. eds., Universitat Barcelona publ., Spain : 75-80.

RELINI M., TORCHIA G., 1992. Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* (Vahl.) C. Agardh in acque italiane. *Doriana* vol. VI n. 279.

VAUGELAS J. de, MEINESZ A., ANTOLIĆ B., BALLESTEROS E., BELSHER T., CASSAR N., CECCHERELLI G., CINELLI F., COTTALORDA J.M., FARADA' ORESTANO C., GRAU A.M., JAKLIN A., MORUCCI C., RELINI M., SANDULLI R., ŠPAN A., TRIPALDI G., VAN KLAVEREN P., ZAVODNIK N., ŽULJEVIĆ A., 1998. Proposition pour une standardisation de la représentation cartographique de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. Suivi de l'invasion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée: situation au 31.12.97. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiavérini D., Cassar N. & Vaugelas J. de eds., LEML-UNSA publ. : 25-34.

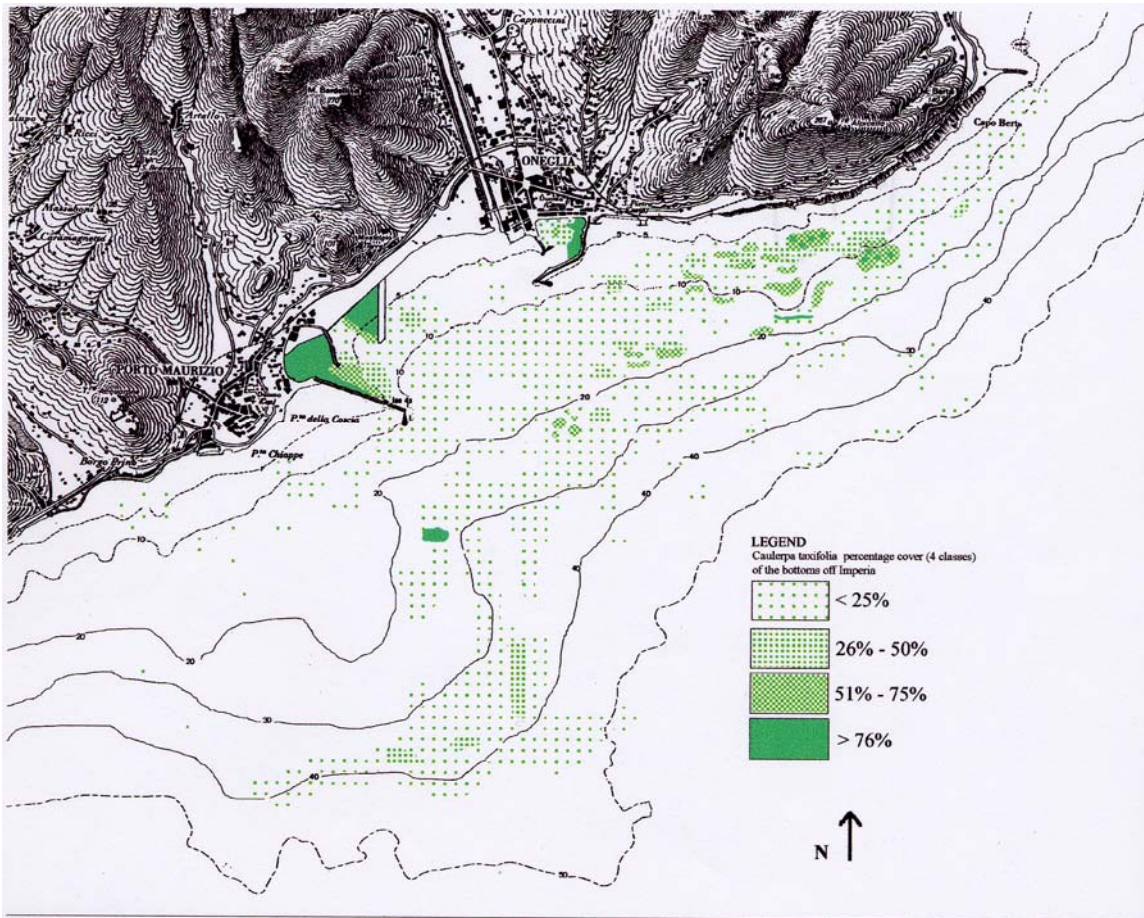


Figure 2. *Caulerpa taxifolia* mapping at Imperia using 4 classes of percentage cover of bottoms.

EXPANSION DE *CAULERPA TAXIFOLIA* ET DE *CAULERPA RACEMOSA* LE LONG DES CÔTES TOSCANES (ITALIE), SITUATION EN 1998

Luigi PIAZZI, Giulia CECCHERELLI & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa - Via A. Volta 6, 56126
Pisa

ABSTRACT

Caulerpa taxifolia was recorded for the first time along the Tuscan coast in 1992. It now occurs in Elba Island, from Galenzana Bay to the port of Marina di Campo, and in a small area south of Leghorn. *Caulerpa racemosa* was recorded for the first time in 1993 along the Tuscan coast and now it is well spread on Meloria Shoals, a wide shallow water area of about 90 km², and although discontinuously, it occurs along the coast for 60 km from Viareggio to Vada Shoals. *Caulerpa racemosa* colonises the sublittoral zone down to 20 m depth, on all substrates, but it has also been observed in the intertidal zone. *Caulerpa racemosa* occurs mixed with algal turf and at the edge of *Posidonia oceanica* it grows in stratified pattern covering seagrass rhizomes. *Caulerpa racemosa* exhibits a well defined seasonal vegetative cycle with a maximum development during summer-autumn and a lack of production from December to April.

RÉSUMÉ

Caulerpa taxifolia est apparue le long des côtes toscanes en 1992. Actuellement elle est également présente à l'île d'Elbe, entre la Baie de Galenzana et le port de Marina di Campo, ainsi que dans une petite zone située au sud de la ville de Livourne. *Caulerpa racemosa* a été signalée pour la première fois en Toscane en 1993. A présent elle colonise tous les Bancs de la Meloria, une large zone de haut fonds étendue sur une surface d'environ 90 km², et est distribuée de façon discontinue le long de 60 km de côte entre la ville de Viareggio et les Bancs de Vada. *Caulerpa racemosa* se développe à partir de la surface jusqu'à 20 m de profondeur sur tous les types de substrats et a également été observée dans l'étage médiolittoral. L'espèce se développe aisément sur les peuplements d'algues gazonnantes, alors que dans les zones de contact avec *Posidonia oceanica* les stolons de l'algue se stratifient et recouvrent les rhizomes de la phanérogame. Les peuplements de *C. racemosa* présentent un cycle végétatif saisonnier marqué, avec un développement végétatif maximal pendant l'été et l'automne et une période de latence entre décembre et avril.

INTRODUCTION

La propagation des Bryopsidophyceae tropicales *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh et *Caulerpa racemosa* (Forskåll) C. Agardh en Méditerranée occidentale représente un problème dont l'importance s'accroît rapidement. En Toscane, *C. taxifolia* a été signalée en 1992 à Livourne (CINELLI, obs. pers.) et en 1993 à l'île d'Elbe (CINELLI & LAVELLI, 1994). *C. racemosa* est apparue en 1993 sur les Bancs de la Meloria, devant le port de Livourne (PIAZZI *et al.*, 1994). La présente étude a pour but de donner la répartition actuelle des deux espèces le long des côtes toscanes. Les résultats d'une série

d'études menées *in situ* dans le but de connaître le cycle végétatif de *C. racemosa* et ses caractéristiques de développement sont présentés ici.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La répartition de *Caulerpa taxifolia* et de *Caulerpa racemosa* a été évaluée au moyen de transects parallèles et perpendiculaires à la côte, effectués par des plongeurs qui ont relevé la présence de ces algues ainsi que les caractéristiques des peuplements. Les données obtenues ont été complétées par des résultats d'autres études effectuées jusqu'à présent.

Les caractéristiques d'accroissement de *C. racemosa* ont été étudiées dans une zone côtière située au sud de la ville de Livourne à une profondeur de 2 m. Le cycle végétatif a été étudié à partir de l'allongement des stolons et de la hauteur des frondes mesurés *in situ* à proximité de dix balises placées à la limite de taches de *C. racemosa* choisies au hasard à l'intérieur de l'aire d'étude. Pour chaque balise, cinq stolons et cinq frondes choisis au hasard à chaque date ont été mesurés tous les deux mois pendant un an. L'accroissement des stolons a été étudié dans deux types d'habitat différents : sur des peuplements d'algues gazonnantes colonisant le substrat rocheux et en bordure de l'herbier à *Posidonia oceanica* (L.) Delile. Le nombre des stolons a été mesuré en dénombrant les stolons présents entre deux balises espacées de 20 cm.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

A l'île d'Elbe, *Caulerpa taxifolia* est présente de la surface jusqu'à 15 m de profondeur le long de 2.7 km de côte, entre la Pointe Bardella et le port de Marina di Campo (fig. 1). L'algue colonise aussi bien le substrat rocheux que la matte morte de *Posidonia oceanica* et les faisceaux vivants de la phanérogame. La surface atteinte (*sensu* MEINESZ *et al.*, 1997) par l'algue, actuellement de 44.5 ha, a doublé par rapport à 1997 (CINELLI *et al.*, 1998). A Livourne, *C. taxifolia* avait été signalée et éradiquée en 1992. Successivement, de nouvelles implantations sont apparues et actuellement 38 taches de 0.2 à 8 m², ont été mesurées, avec une surface totale colonisée de 40 m² (fig. 2) et une surface atteinte d'environ 2 ha.

A présent, *Caulerpa racemosa* couvre une large partie des Bancs de la Meloria (DE BIASI *et al.*, 1998), une large zone de haut fonds étendue sur une surface d'environ 90 km², et est distribuée sur 30 km de côte entre le port de Livourne et les Bancs de Vada. *C. racemosa* a été également trouvée au nord de la Meloria jusqu'à la ville de Viareggio sur un fond sableux (MAGRI & SERENA, 1998) (fig. 3). Le linéaire de côte concernée en Toscane est donc de 60 km. L'espèce se développe à partir de la surface jusqu'à 20 m de profondeur sur tous les types de substrats et a également été observée dans l'étage médiolittoral. Dans les aires colonisées, *C. racemosa* a développé un réseau compact d'axes et de stolons qui piègent le sédiment en constituant une couche de 10 à 15 cm d'épaisseur, qui étouffe les autres espèces algales. Jusqu'à présent, l'algue se

développe surtout sur la matre morte de *Posidonia oceanica* et sur les substrats rocheux occupés par des peuplements d'algues gazonnantes. En revanche, elle ne semble pas pénétrer dans les herbiers à *P. oceanica* très denses.

Le balisage permanent a permis de montrer une progression horizontale des stolons variant de 128 à 210 cm en un an, avec une valeur moyenne de 162 ± 27.1 cm (moyenne \pm DS). Entre août et novembre l'allongement des stolons, dans les zones balisées, a été de 50.3 ± 6.5 cm sur les peuplements gazonnants et de 7.8 ± 1.6 cm en bordure de l'herbier à *P. oceanica* (Fig. 4a). Dans le même temps, l'augmentation en pourcentage du nombre des stolons a été de 93.5 ± 13.6 % sur les peuplements gazonnants et de 372.3 ± 84.3 % en bordure de l'herbier à *P. oceanica* (fig. 4b). Le faible allongement des stolons en bordure de l'herbier à *P. oceanica* est donc compensé par une stratification des stolons qui constituent alors une épaisse couche pouvant lentement endommager les rhizomes.

Le peuplement de *Caulerpa racemosa* étudié présente un cycle de développement végétatif saisonnier marqué. L'accroissement maximum a lieu entre juin et août, avec un allongement moyen par jour de 1.3 ± 0.5 cm, alors qu'entre décembre et avril la croissance s'arrête (fig. 5a). La hauteur des frondes atteint le niveau maximum en octobre (6.1 ± 0.4 cm) et minimum en avril (0.8 ± 0.2 cm ; fig. 5b).

L'arrêt du développement ne semble pas modifier le pouvoir compétitif de *Caulerpa racemosa* à l'égard des autres phytocénoses. Pendant la période froide, les stolons continuent à constituer une couche sur le substrat qui permet une reprise végétative très rapide au début de la saison chaude. Même si d'autres études sont nécessaires pour évaluer ses effets sur la structure des phytocénoses benthiques, *C. racemosa* semble compétitivement plus avantagée par rapport à d'autres communautés algales méditerranéennes. Dans une aire colonisée, elle a la capacité de constituer rapidement des peuplements uniformes.

En Toscane, *Caulerpa racemosa* a montré une capacité de propagation supérieure à celle de *Caulerpa taxifolia*, laquelle, même en augmentant graduellement la surface colonisée, est restée à l'intérieur de deux petites zones atteintes. *C. racemosa*, au contraire, a montré un accroissement explosif de la surface atteinte, qui est passée d'environ 300 m² en 1993 à la répartition actuelle le long de 60 km de côte.

BIBLIOGRAPHIE

CINELLI F., LAVELLI L., 1994. Cartografia della prateria a *Caulerpa taxifolia* in località Marina di Campo (Isola d'Elba). *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A. & Gravex V. edit., Gis Posidonie publ., France : 139-145.

CINELLI F., CECCHERELLI G., ORESTANO C., IERARDI S., MANGIALAJO L., RELINI M., TUNESI L., MEINESZ A., CHIAVERINI D., COTTALORDA J.M., 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes italiennes de la Méditerranée : situation au 31 décembre 1997. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiaverini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML-UNSA publ, France : 197-198.

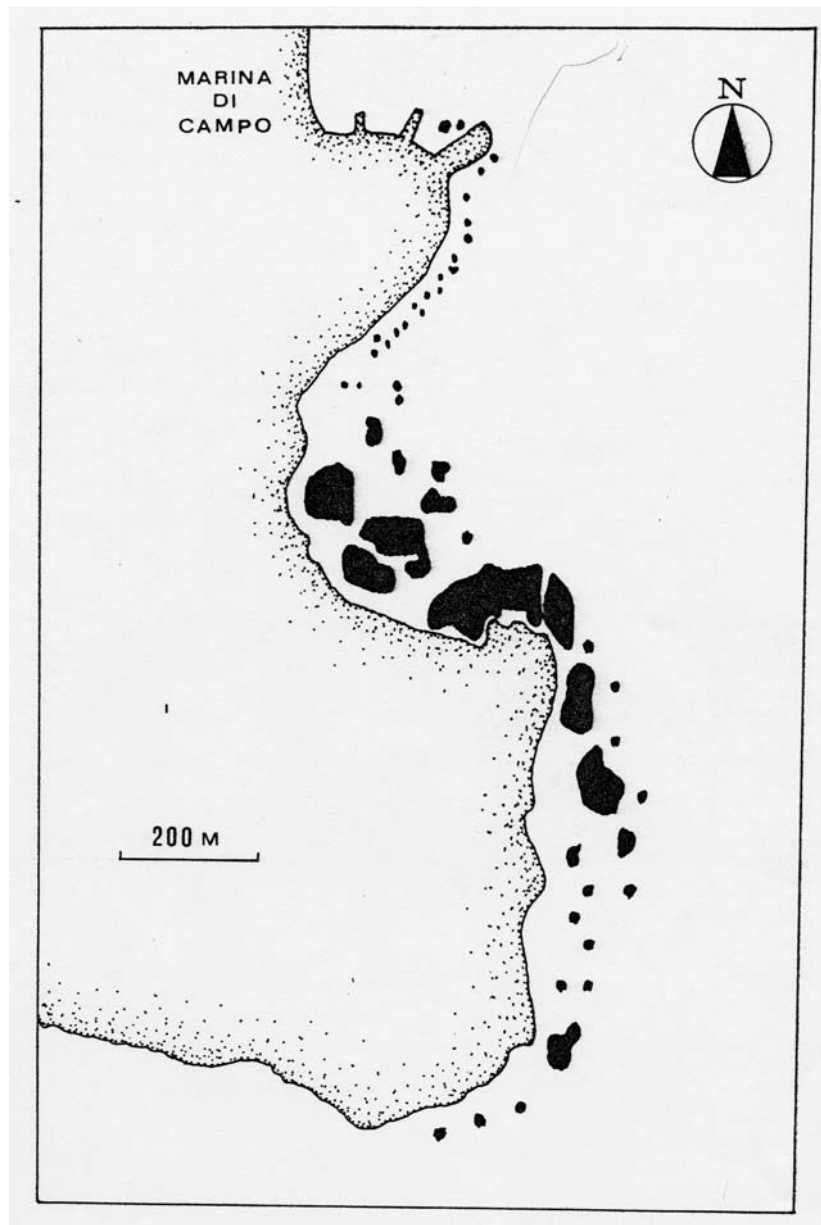


Figure 1. Répartition de *Caulerpa taxifolia* à l'île d'Elbe (juillet 1998).

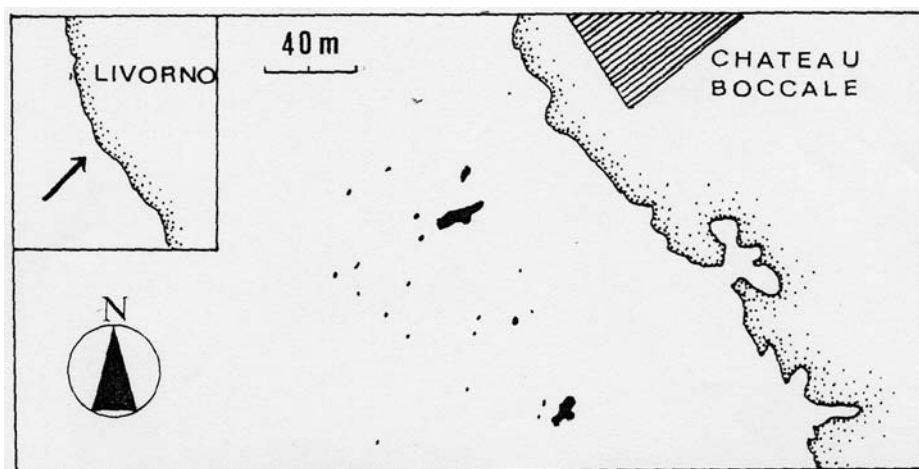


Figure 2. Localisation de *Caulerpa taxifolia* au sud de Livourne (juillet 1998).

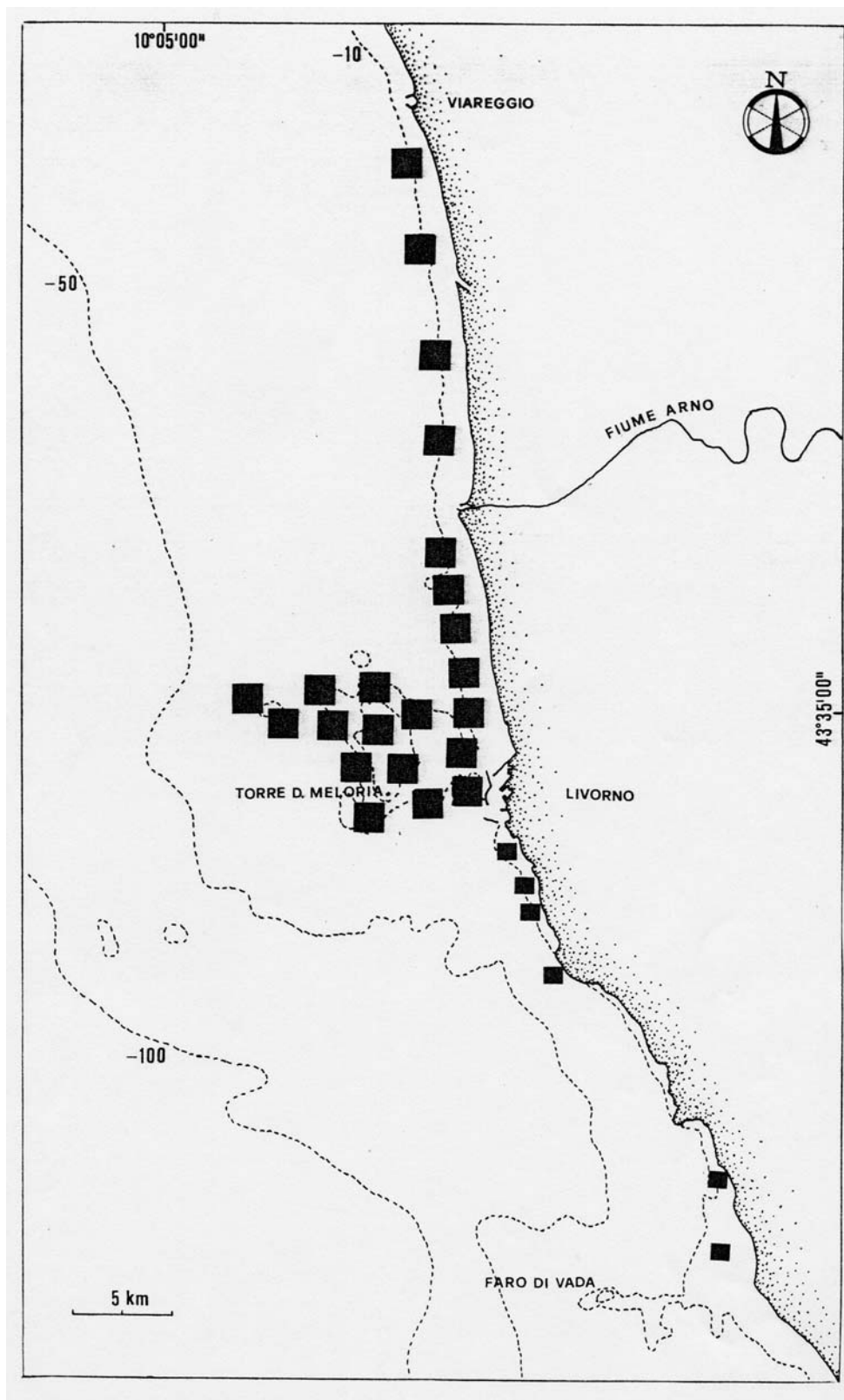


Figure 3. Répartition de *Caulerpa racemosa* le long de la côte toscane (juillet 1998).

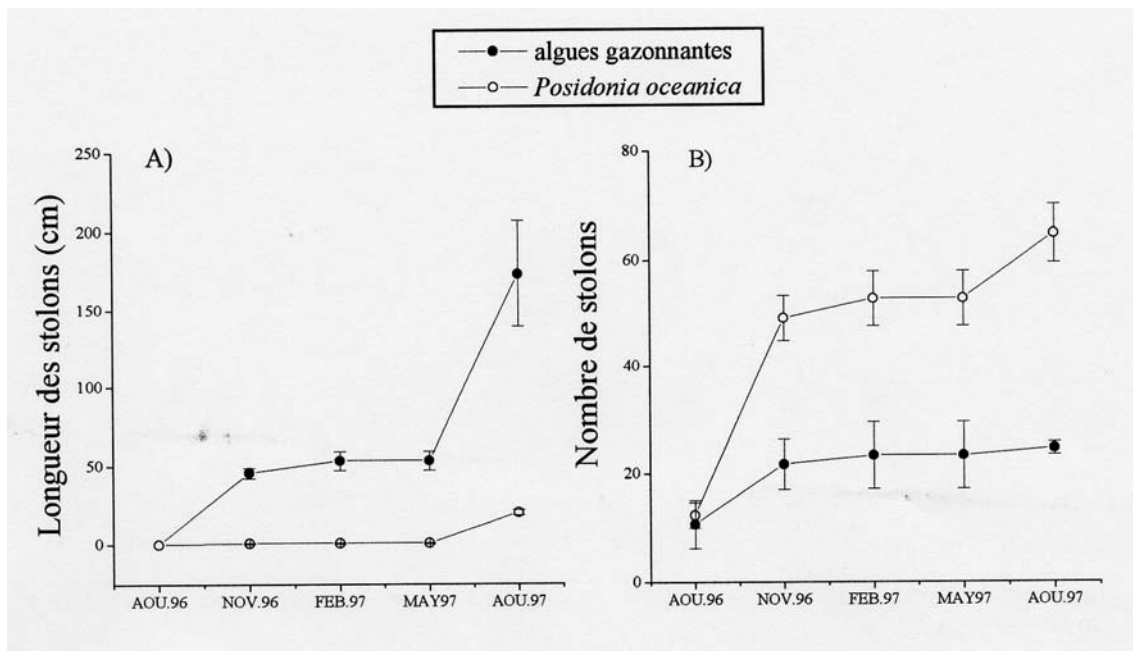


Figure 4. Longueur (A) et nombre (B) de stolons de *Caulerpa racemosa* en contact avec un peuplement d'algues gazonnantes et un herbier à *Posidonia oceanica*.

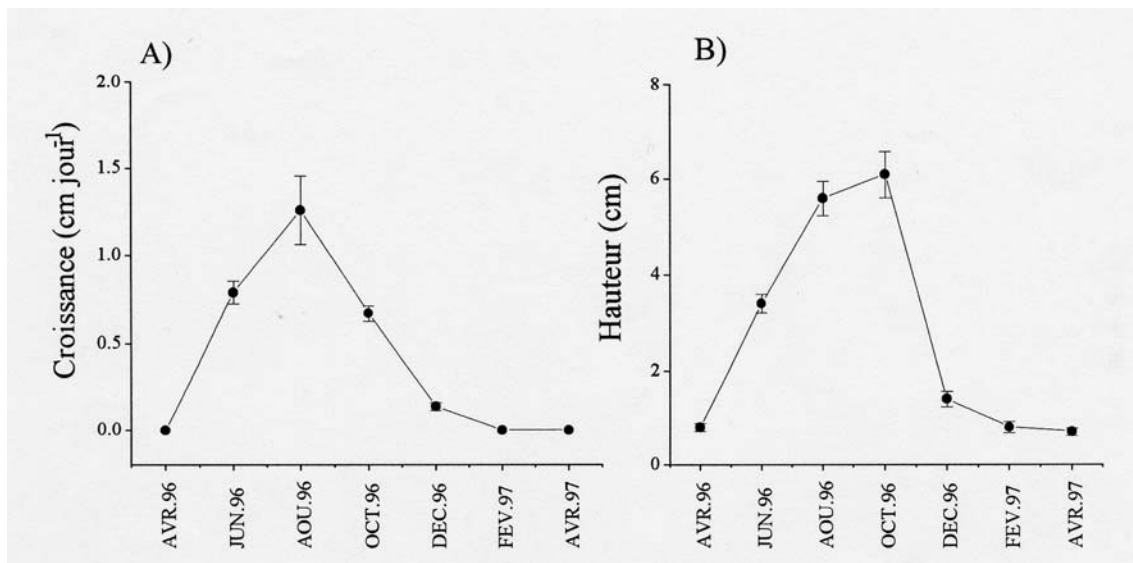


Figure 5. Croissance journalière des stolons (A) et hauteur moyenne des frondes (B) de *Caulerpa racemosa*.

DE BIASI A.M., GAI F., VANNUCCI A., 1988. Biologia delle Secche della Meloria: Nuove considerazioni sull'ecologia di *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh. *Atti XXIX Congr. SIBM, Ustica, Italie* : 32.

MAGRI M., SERENA F., 1988. Diffusione progressiva di *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh. *Atti XXIX Congr. SIBM, Ustica, Italie* : 34.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée : situation au 31 décembre 1996. Ed. Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, France : 190 pp.

PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie*, France, 15 (3) : 183-189.

SPREAD OF *CAULERPA TAXIFOLIA* IN SICILY AND CALABRIA (ITALY)

Carla ORESTANO, Maria PIRROTTA & Ettore AMMIRATO †

Laboratorio di Ecologia Acquatica, Dipartimento di Scienze Botaniche dell'Università, Via Archirafi, 38 - 90123 Palermo, Italia.

Key words : *Caulerpa taxifolia* spreading, Southern Italy

ABSTRACT

Research on the tropical alga *Caulerpa taxifolia* has been carried out along the Sicilian and Calabrian shorelines of the Strait of Messina, the southern Tyrrhenian and Ionian coasts. The areas contaminated by *C. taxifolia* along the Sicilian coast of the Strait of Messina (from Capo Peloro to the city of Messina) have been significantly increasing, reaching, especially in the areas overlooking Torre Faro and Paradiso, considerable dimensions of development. The spread has increased towards deeper waters. Between Capo Peloro and Punta Mazzone (southern Tyrrhenian Sea) a new settlement has been found. Some sightings of *Caulerpa taxifolia* along the Sicilian coast have been confirmed. The distribution of *C. taxifolia* in Calabria has been studied and it concerns a discontinuous area from Marina di Porticello to Scilla with an isolated patch at Favazzina. For both regions mapped, the affected shoreline, covered, affected and concerned areas are reported. The development of certain areas of colonization on the Southern Tyrrhenian coasts confirms that *C. taxifolia* continues its spread, mainly according to the flow of currents.

RÉSUMÉ

Des recherches sur l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* ont été menées le long des côtes de Sicile et de Calabre dans le détroit de Messine. Les zones colonisées par *C. taxifolia* le long de la côte de Sicile du détroit de Messine (de Capo Peloro à la ville de Messine) ont progressé. La zone la plus fortement colonisée se trouve entre Torre Faro et Paradiso. *C. taxifolia* s'est étendue en profondeur. Entre Capo Peloro et Punta Mazzone (Sud de la Mer Tyrrhénienne) une nouvelle station a été trouvée. Quelques-unes des signalisations de *C. taxifolia* le long de la côte sicilienne ont été vérifiées. La distribution de *C. taxifolia* en Calabre concerne une zone discontinue de Marina di Porticello à Scilla et des taches isolées à Favazzina. Pour les deux régions cartographiées, le trait de côte affecté, les zones couvertes, affectées et les surfaces affectées sont précisés. Le développement de *C. taxifolia* dans certaines zones confirme que cette algue poursuit son expansion, conditionnée principalement par les courants.

RIASSUNTO

Nell'ambito delle ricerche sul controllo dell'espansione di *Caulerpa taxifolia*, sono proseguiti gli studi sulla distribuzione dell'alga lungo le coste siciliane e calabre dello Stretto di Messina, nelle acque del Tirreno meridionale e del Mar Ionio. Lungo le coste siciliane dello stretto di Messina, la zona contaminata da *C. taxifolia* si è ulteriormente ingrandita seguendo soprattutto il gradiente batimetrico. Le aree a maggiore copertura sono quelle di Torre Faro e Paradiso. Una nuova stazione è stata osservata lungo le coste siciliane del Mar Tirreno tra Capo Peloro e Punta

Mazzone. Alcune segnalazioni dell'alga, in Sicilia, sono state verificate. *C. taxifolia* è presente lungo le coste calabre del Mar Tirreno dalla località Marina di Porticello al paese di Scilla con una distribuzione discontinua; una colonia isolata è stata osservata più a Nord in località Favazzina. Per ambedue le regioni sono riportate le carte della distribuzione e sono state valutate la linea di costa affetta e le superfici coperte, affette e attese. I dati rilevati confermano che lo sviluppo di *C. taxifolia*, soprattutto per le coste tirreniche, progredisce seguendo l'andamento delle correnti dominanti.

INTRODUCTION

In order to improve the control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea (Program Life II-UE), research has been carried out on the expansion and development of *Caulerpa taxifolia* along the Sicilian and Calabrian coasts of the Strait of Messina, the Tyrrhenian and Ionian Seas.

In Sicily, *Caulerpa taxifolia* was reported for the first time in July 1993, along the Sicilian coasts of the Strait of Messina: off Torre Faro, in the channel of Lake Ganzirri and between Ganzirri and Punta Faro (FRADÀ ORESTANO *et al.*, 1994). Further observations showed a constant increase in size, number and density of colonies, affected shoreline, covered, affected and concerned areas (FRADÀ ORESTANO & CALVO, 1995; MORUCCI *et al.*, 1996; CINELLI *et al.*, 1998; ORESTANO, 1998). By the end of 1998 *Caulerpa taxifolia* had reached 9.5 km of affected shoreline, 850 m² of covered area, 60 ha of affected area and 220 ha of concerned area (CINELLI *et al.*, 1998; ORESTANO, 1998).

In Calabria, DI MARTINO and GIACCONE were informed of *Caulerpa taxifolia* patches in Scilla and Torre Cavallo in 1994 and checked the stations in 1997 (CINELLI *et al.*, 1998). Reported data show 0.15 km for affected shoreline and 500 m² for affected area (personal communication DI MARTINO). Data concerning the observations conducted in 1998 in the two regions (Sicily and Calabria) are reported here. In particular, the already known settlements of the Strait of Messina and Calabrian coast have been studied and new settlements of *Caulerpa taxifolia* have been confirmed.

MATERIAL AND METHODS

Between June 1998 and January 1999 repeated survey dives (ARA) were carried out either to monitor the already known stations along the Sicilian shoreline of the Strait of Messina, or to check new sightings of *Caulerpa taxifolia* along the Calabrian and Sicilian coasts of the Strait of Messina, southern Tyrrhenian Sea and Ionian Sea.

The number, the size and density of the colonies, the kind of the substratum and of the associated biological communities were assessed. The stage in the invasion of a site (MEINESZ *et al.*, 1993) and the level of colonization were estimated, and the affected shoreline and covered, affected and concerned surfaces (VAUGELAS *et al.*, 1999) were calculated.

The relieved data have been reported on the nautical maps of the Istituto Idrografico della Marina (n° 138 INT3352 Stretto di Messina – 1: 30.000; n° 23 from Capo Milazzo to Roccella Ionica – 1: 100.000), using standardized symbology (VAUGELAS *et al.*, 1999).

RESULTS AND DISCUSSION

Sicily. Along the Sicilian shoreline (fig. 1), from Capo Peloro to Messina harbor, the surface area and the number of colonized stations have been steadily increasing. Further observations have shown the massive expansion in the two known contaminated zones (Torre Faro / Ganzirri and Paradiso / Fiumara dell'Annunziata).

Off Torre Faro / Ganzirri, *Caulerpa taxifolia* has continuously colonized an area of 960 m², from 5 to 30 m depth, reaching, in November, a total 90-100 % cover. In this zone a new deeper patch of *C. taxifolia* (> 7 m²) was found at –63 m.

Off Paradiso / Fiumara dell'Annunziata, a large colony (350 m²) has been observed along 200 m of shoreline from 5 to 20 m depth. In this zone, *C. taxifolia* has covered *Posidonia oceanica* meadows, sand intermattes and algae communities on rocky bottoms.

Between the two main areas, several patches of *C. taxifolia* (1 to 30 m²) are still observed with discontinuous distribution from the surface to 30 m depth. The areas, continuously covered by this alga have increased 14.1 times between 1993 and 1998. This agrees with the general dynamics of spread in the Mediterranean (BOUDOURESQUE *et al.*, 1995; UNEP, 1995).

In 1998, patches reported below ferryboat landing areas (Rada S. Francesco), were checked and the presence of several small colonies (1 m²) was also confirmed.

The current, as already remarked, is the main factor that allows *C. taxifolia* to spread and develop in this zone. On the one hand, along the Strait of Messina's Sicilian shoreline (from Capo Peloro to Messina harbor), in the areas (Torre Faro / Ganzirri and Paradiso / Fiumara dell'Annunziata) where hydrodynamic flow is only conditioned by rising (from south to north) and descending (from north to south) current floods, *Caulerpa taxifolia* shows rapid expansion and develops the most extensive cover. On the other hand, in other areas (Grotta, S. Agata, Punta Sottile) where, besides current floods, whirlpools caused by coastal return fluxes occur, *Caulerpa taxifolia* shows some expansion with patches reaching almost 30 m².

A new patch of *Caulerpa taxifolia* has been reported along the Sicilian shoreline of the Tyrrhenian Sea, confirming the expansion of the alga towards the north. Between Capo Peloro and Punta Mazzone a colony about 2 m², at 27 m depth, has covered the rocky bottom. In this case the colonization is probably due to transport by pleasure boats or

fishing nets, because dominant shoreline current floods (from west to east) flow in the opposite direction to the expansion of the alga.

In the Tyrrhenian Sea, reports of *Caulerpa taxifolia* in Lipari (Eolian Isles) and Milazzo (Sicilian shoreline) were verified but proved wrong; in both cases they were *Caulerpa prolifera* colonies. In the Ionian Sea, verification of the settlement at Isola Bella-Taormina also proved negative; several diving observations were carried out from July until November 1998 and *C. taxifolia* was never observed.

In 1998, along the Sicilian shoreline, the spread of *Caulerpa taxifolia* reached a total 11.9 km of affected shoreline (about 12 km observed in 1997), 1400 m² of covered surface, 311 ha of affected surface and 480 ha of concerned surface. It seems, that in this area, the progression is towards deeper waters (20 m depth in 1994, 30 m depth in 1997 and 50 m depth in 1998) rather than along the shoreline. It is possible to hypothesize that the town of Messina, in the south, and the dominant shoreline current floods (from west to east) towards the north, stopped expansion along the Sicilian coasts.

Calabria: Along the Calabrian shoreline the area where *Caulerpa taxifolia* was observed for the first time (July 1995, V. DI MARTINO), is located near the small town of Scilla and the Torre Cavallo locality (fig. 2). Station verification (July 1997, V. DI MARTINO) has showed 0.15 km of affected shoreline and 500 m² of affected surface (CINELLI *et al.*, 1998).

Further diving observations (July 1998 / January 1999) have showed several colonies of variable density (1 to 30 m²), from Marina di Porticello to Marina Grande di Scilla (including the area of Torre Cavallo), between 2 and 15 m depth, in which *C. taxifolia* lives on sand, rock and sparse *Posidonia oceanica* bed; several colonies with high density and coverage (2 to 100 m²) from Marina Grande di Scilla and Scilla Castle, live on sand and rocky bottoms, from the surface to 50 m depth (deepest location). In the harbor of Scilla, *C. taxifolia* was recorded on the bottom, at 2 to 6 m depth, and along quays with sparse small colonies (1 to 5 m²) and off the town of Scilla some small patches were found on *Posidonia oceanica* bed. Following the Calabrian shoreline (north-east), a single patch of *C. taxifolia* was observed (January 1999), at 30 m depth, in the locality of Favazzina (between Scilla and Bagnara Calabria) near a methane pipeline.

The presence of *C. taxifolia* has never been observed in Bagnara Calabria and Palmi. Along the Strait of Messina Calabrian shoreline (Villa San Giovanni and Reggio Calabria) the presence of *C. taxifolia* has never been recorded.

In 1998, along the Calabrian shoreline, the spread of *Caulerpa taxifolia* reached a total 5.4 km of affected shoreline, 300 m² of covered area, 9400 m² of affected area and 260 ha of concerned area.

Two main factors caused the establishment of *Caulerpa taxifolia* along the Calabrian shoreline. First of all, the transport of algae fragments due to rising stream (from south to north) in the Strait of Messina combined with dominant shoreline current floods

(from west to east) in the southern Tyrrhenian Sea; secondly, by fishing nets and pleasure boat anchors.

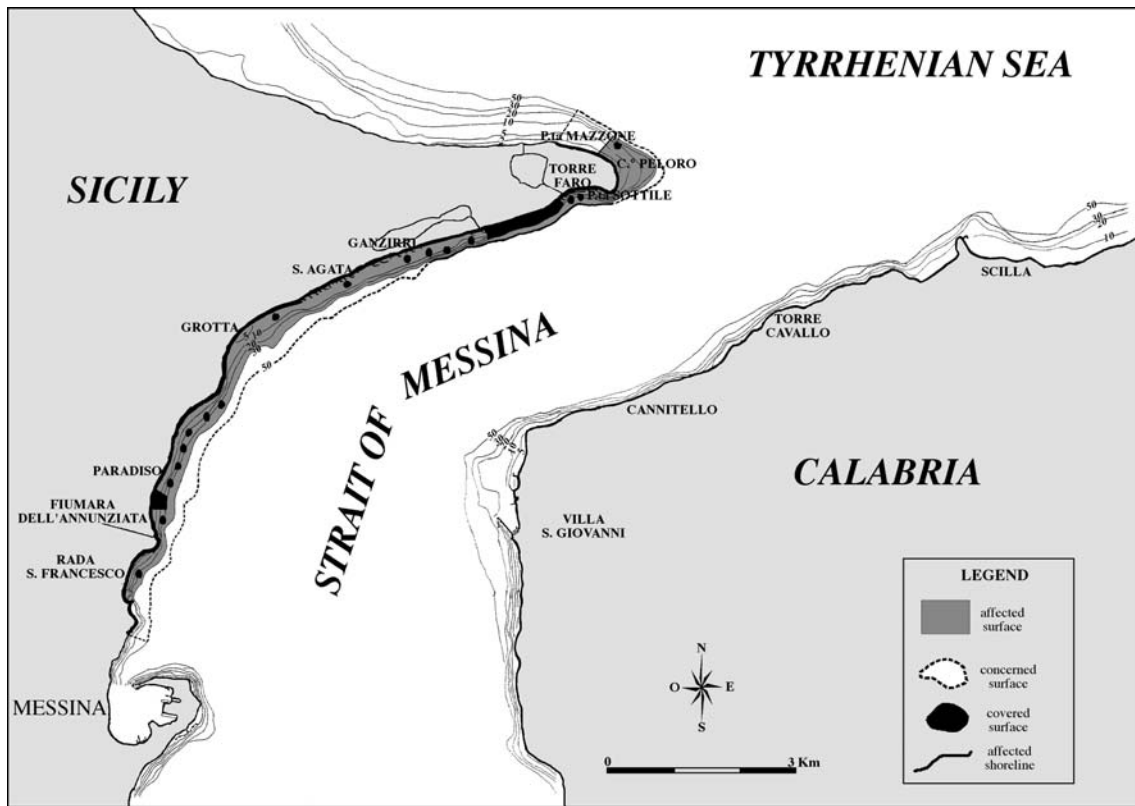


Figure 1. Distribution of *Caulerpa taxifolia* along the Sicilian shoreline.

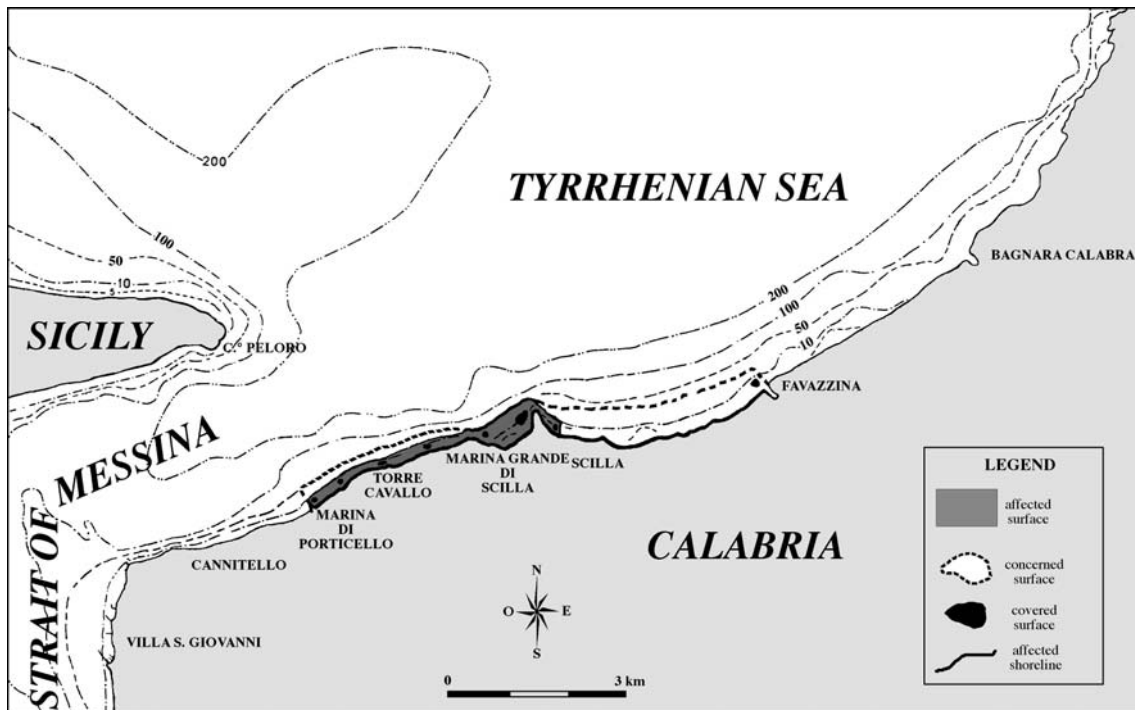


Figure 2. Distribution of *Caulerpa taxifolia* along the Calabrian shoreline.

CONCLUSIONS

In the two regions of Sicily and Calabria, *Caulerpa taxifolia* affected about 18 km of shoreline with 1700 m² of covered area, 312 ha of affected area, and 740 ha of concerned area.

In Sicily no differences are evident with regard to the affected shoreline while a significant progression is clear regarding covered, affected and concerned surfaces along deeper gradients.

According to MEINESZ *et al.*'s classification (1993), the known colonies of *Caulerpa taxifolia*, along the Sicilian shoreline of the Strait of Messina, stay between 4th and 5th stage in the invasion of a site. As for the level of colonization (VAUGELAS *et al.*, 1999), considering the affected (311 ha) and the concerned (480 ha) surfaces, *Caulerpa taxifolia* reaches the 3rd level.

In relation to the Calabrian shoreline of the Tyrrhenian Sea, *Caulerpa taxifolia* spreads both along the coast and the depth gradient. Colonies reach the 3^o stage in the invasion of a site, while the level of colonization is the first (9400 m² affected, 260 ha concerned).

Referring to the observations carried out from 1993 to 1998, further spreading of *Caulerpa taxifolia* is particularly to be expected along southern Tyrrhenian coasts. It should be emphasized that, while the spread along the Tyrrhenian shoreline of Calabria is probably caused by the hydrodynamic conditions (current floods), in Sicily the anthropic factors, such as fishing nets and pleasure boat anchors, are more likely causes of diffusion.

In relation to the expected spreading of *Caulerpa taxifolia* in the Ionian Sea (Sicilian and Calabrian coasts), considering that the alga never occurred below the town of Messina, Villa San Giovanni and Reggio Calabria, it is possible to suppose that the main cause of *Caulerpa taxifolia* diffusion in this area, could be of anthropogenic origin.

Acknowledgments: I would like to dedicate this work to Ettore AMMIRATO, tragically gone missing in the summer of 1998, who actively collaborated in the investigations, since the first sighting of *Caulerpa taxifolia* in the Strait of Messina, undertaking this research with commitment, competence and enthusiasm. I would also like to thank particularly: G. IARIA and P. FULCI at the Oloturia Sub from Messina, P. BARONE at the Scilla Diving Center from Scilla (RC), A. LENTINI at the Naxos Diving Center from Giardini Naxos (ME), for their helpful collaboration during the sea operations, G. RUGGERI for the pictures. Many thanks go to Comandante F. BONACCORSO from the Comando Militare Marittimo Autonomo in Sicily, who has actively managed the distribution of information booklets. This work has been carried out as part of the research of the Programme LIFE II / CEE "Contrôle de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée" by GIS Posidonie.

REFERENCES

- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., RIBERA M.A., BALLESTEROS E., 1995. Spread of the green alga *Caulerpa taxifolia* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean: possible consequences of a major ecological event. *Sci. Mar.* 59 (Supl. 1) : 21-29.
- CINELLI F., CECCHERELLI G., ORESTANO C., IERARDI S., MANGIALAJO L., RELINI M., TUNESI L., MEINESZ A., CHIAVERINI D., COTTALORDA J.M., 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes italiennes de la Méditerranée: situation au 31 décembre 1997. In: Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiavérini D., Cassar N. & Vaugelas J. de eds., *Suivi de l'invasion de l'algue tropicale Caulerpa taxifolia en Méditerranée: situation au 31.12.1997*. LEML-UNSA Publ., France : 179-204.
- FRADÀ ORESTANO C., CALVO S., FERRERI B.M., 1994. First record of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Southwestern Mediterranean. *Giorn. Bot. Ital.* 128 (3-4) : 813-815.
- FRADÀ ORESTANO C., CALVO S., 1995. Diffusione dell'algua tropicale *Caulerpa taxifolia* nelle acque dello Stretto di Messina. *Biologia Marina Mediterranea*, 2 (2) : 645-647.
- MEINESZ A., VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. Appl. Phycol.* 5 : 141-147.
- MORUCCI C., FRADÀ ORESTANO C., SANDULLI R., TRIPALDI G., CALVO S., 1996. Progression of *Caulerpa taxifolia* along the Northeastern coasts of Sicily (Messina, Italy). *Second Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A. & Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 81-84.
- ORESTANO C., 1998. Risultati preliminari sul controllo dell'espansione di *Caulerpa taxifolia* nelle acque dello Stretto di Messina (Sicilia, Italia). *Third Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A. & Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 45-49.
- UNEP, 1995. The presence of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea. *UNEP (OCA)/MED*, Athens WG. 89/Inf. 9 : 23 pp.
- VAUGELAS J. de, MEINESZ A., ANTOLIĆ B., BALLESTEROS S., BELSHER T., CASSAR N., CECCHERELLI G., CINELLI F., COTTALORDA J.M., FRADÀ ORESTANO C., GRAU A.M., JAKLIN A., MORUCCI C., RELINI M., SANDULLI R., ŠPAN A., TRIPALDI G., VAN KLAVEREN P., ZAVODNIK N., ŽULJEVIĆ A., 1999. Standardization of map representation for the expansion of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea. *Oceanologica Acta* 22 (1) : 1-10.

**LE RÉSEAU DE SURVEILLANCE POUR DÉTECTER *CAULERPA TAXIFOLIA* SUR LE LITTORAL DU PAYS VALENCIEN (ESPAGNE).
ANNÉES 1993 À 1998**

Aurelio ARANDA ¹, Juan Eduardo GUILLÉN ¹, David GRAS ¹, Marisa BUENO ² & Felicidad CUESTA ²

¹ Institut d'Ecologia Litoral. Benimagrell s/n. 03560 El Campello. Alicante. Espagne.

² Conselleria de Medi Ambient. Generalitat Valenciana. Arquitecto Alfaro, 39, 46011, Valencia.

ABSTRACT

The Direcció General de Qualitat Ambiental (which is part of the Conselleria de Medi Ambient of the Generalitat Valenciana) started a surveillance programme on the Valencian coast after seeing one colony of the seaweed *Caulerpa taxifolia* in Saint-Cyprien (Pyrénées-Orientales, France) at the end of 1991, near the Spanish border. This programme was designed to detect the presence or possible introduction of *C. taxifolia*. During 1993 and 1994 it was sponsored by the LIFE project. In 1995 and 1996 the regional government sponsored the programme. From September 1996, it was part of the new LIFE programmes 95/F/ A31/EPT/782 of the CCE, which was developed until September 1998. Researchers from the Institut d'Ecologia Litoral have carried out the surveillance in various stations along the Valencian coast (between 20 and 39 stations). They were examined at least twice a year. These stations are monitored because of their potential risk for introduction. Most of them are situated in yachting and fishing harbours (those in Valencia and Castelló), as well in the anchorage areas on the Alicante coast. *Caulerpa taxifolia* was seen on the Valencian coast at this time. Several warnings had been received after the first public awareness campaign was carried out in 1993 and 1994, but none of them corresponded to *C. taxifolia*.

RÉSUMÉ

Après la localisation, fin 1991, d'une colonie de l'algue *Caulerpa taxifolia* à Saint-Cyprien (Pyrénées-Orientales, France), très près de la frontière espagnole, la Direcció General de Qualitat Ambiental dépendant de la Conselleria de Medi Ambient de la Generalitat Valenciana a entrepris un programme de surveillance des côtes afin de détecter la présence de *Caulerpa taxifolia*. Ce programme a été réalisé en 1993-1994 avec un cofinancement LIFE et s'est poursuivi en 1995 et 1996 avec un financement régional. Après septembre 1996, nous avons pris part au nouveau programme Life 95/F/ A31/EPT/782 de la CCE, qui s'est déroulé jusqu'en septembre 1998. La surveillance a été réalisée par des chercheurs de l'Institut d'Ecologia Litoral le long des côtes de la région sur un nombre variable de sites selon les années. Entre 20 et 39 sites, considérés comme des zones à fort risque de colonisation par *Caulerpa taxifolia*, ont été surveillés au minimum 2 fois par an. La plupart des sites sont des ports de plaisance et de pêche (Valencia et Castelló) ainsi que des aires de mouillage forain devant les côtes d'Alicante. *Caulerpa taxifolia* n'a pas été trouvée sur les côtes de la région. Après la première campagne de sensibilisation faite en 1993 et 1994, de nombreuses signalisations se sont révélées ne pas correspondre à *C. taxifolia*.

INTRODUCTION

L'algue verte tropicale *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh a été signalée en Méditerranée pour la première fois à Monaco en 1989, où elle était présente depuis 1984 selon plusieurs témoignages (MEINESZ *et al.*, 1993). Depuis cette première signalisation, l'expansion de cette espèce a été rapide et les surfaces occupées ont été multipliées par 3 à 10 selon les sites (BOUDOURESQUE *et al.*, 1996). Fin 1990, environ 3 ha étaient colonisés par *C. taxifolia* dans les Alpes-Maritimes et le Var et 30 ha fin 1991. C'est en 1991 qu'une nouvelle signalisation a eu lieu à Saint-Cyprien (Pyrénées-Orientales, France), loin du site d'introduction mais proche des côtes de Catalogne. En 1992, la surface colonisée était de 100 à 150 ha, avec de nombreux sites en France, en Italie (Imperia) et en Espagne (à Cala d'Or, île de Mallorca) (POU *et al.*, 1993 ; RIERA *et al.*, 1994). En 1993, *C. taxifolia* avait colonisé de nouveaux sites en France mais surtout en Italie, en arrivant à des localités très méridionales comme le détroit de Messine (MORUCCI *et al.*, 1994), avec un total de 1300 ha (MEINESZ *et al.*, 1994). En 1994, l'algue a été signalée dans l'Adriatique en Croatie (ZAVODNIC *et al.*, 1997 ; ŽULJEVIĆ *et al.*, 1997). Pendant l'année 1995, la surface colonisée a continué à augmenter jusqu'à un total de 1500 ha en janvier 1996.

Caulerpa taxifolia, par sa forte capacité invasive, apparaît comme une menace pour la plupart des peuplements d'algues indigènes ainsi que pour les phanérogames méditerranéennes (MEINESZ & HESSE, 1991 ; VILLELE & VERLAQUE, 1994 ; VERLAQUE & FRYTAIRE, 1994). Ainsi, dans les zones colonisées, les écosystèmes littoraux à forte biodiversité, entre 3 et 40 m de profondeur, ont été remplacés par des populations mono-spécifiques à *C. taxifolia* (DE TORRES *et al.*, 1996).

La forte capacité d'expansion de cette algue, soit de façon naturelle (vagues et courants) soit à la suite d'activités humaines (mouillage, pêche aux filets maillants et aquariophilie) (MEINESZ & HESSE, 1991 ; MEINESZ *et al.*, 1993 ; SANT *et al.*, 1994) ainsi que le coût des techniques d'éradication (AVON *et al.*, 1994 ; ESCOUBET & BRUN, 1994 ; RIERA *et al.*, 1994) rendent utiles la détection et l'éradication précoce des nouvelles colonies. C'est actuellement la meilleure stratégie de ralentissement de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée.

Dans cet article, nous présentons les actions de surveillance des côtes, afin détecter rapidement l'arrivée de *Caulerpa taxifolia* sur le littoral valencien, engagées par la Direcció General de Qualitat Ambiental (Conselleria de Medi Ambient) entre 1993 et 1997.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Face aux risques d'introduction de *Caulerpa taxifolia*, la Direcció General de Qualitat Ambiental dépendant de la Conselleria de Medi Ambient de la Generalitat Valenciana, a considéré d'urgence l'établissement d'un réseau de surveillance et de prévention du littoral valencien.

La surveillance en plongée des sites à risque, situés entre 3 et 10-15 m de profondeur, parfois avec l'aide de scooters sous-marins, a été réalisée deux fois par an sur la totalité des ports de pêche et la plupart des ports de plaisance ainsi que sur des aires de mouillage forain le long des 446 km de côte du Pays Valencien. Dans les rapports annuels de plongée, nous avons inclus la description et l'état des biocénoses de chacun des sites surveillés. Le programme de surveillance pendant les années 1993 et 1994 s'est déroulé dans le cadre du programme LIFE 92-1/INT/13/B ; les trois années suivantes, 1995, 1996 et 1997, le gouvernement de la Generalitat Valenciana, sensibilisé par le problème, a maintenu le financement afin de continuer cette surveillance. Après septembre 1996, nous avons pris part au nouveau programme LIFE 95/F/ A31/EPT/782 de la CCE, qui s'est déroulé jusqu'en septembre 1998.

De plus, dès le mois de mai de 1994, pour prévenir et réduire le risque d'introduction de *C. taxifolia*, la vente, la distribution et la commercialisation de l'algue ont été interdites sur tout le territoire du Pays Valencien (Decreto 89/1994 de 10 de mayo de la Generalitat Valenciana).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le nombre de sites surveillés le long des 446 km de côte du Pays Valencien a été de 20 en 1993, de 24 en 1994, de 26 en 1995, de 31 en 1996, de 38 en 1997, et de 39 en 1998 (tab. I, fig. 1). Les 39 sites représentent des aires peu profondes et abritées, la totalité des ports de plaisance et de pêche, en particulier ceux abritant des bateaux travaillant dans les Baléares, et les sites de mouillage forain. Ces sites ont été surveillés régulièrement, avec une périodicité semestrielle. La plupart de ces sites se trouvent sur la côte d'Alicante (fig. 1) en raison du profil découpé de la côte, ce qui permet une forte concentration de plaisanciers dans les criques et les petites anses. De plus, 54 % des postes d'amarrage des installations portuaires du Pays Valencien sont situés sur la côte d'Alicante.

Le temps total nécessaire à la surveillance des sites est de 6 à 8 semaines, soit 1 à 3 semaines pour Valencia et Castelló et 5 à 6 pour Alicante.

Un système de vidéo sous-marine a été conçu spécialement pour ce travail, ce qui a permis faire une prospection intensive et efficace des ports pendant la deuxième inspection de 1997 et celles de 1998. Ces sites présentent des fortes contraintes qui gênent la surveillance soit pour la sécurité des plongeurs, soit pour obtenir une bonne description des communautés vivantes de l'ensemble des ports (visibilité réduite, trafic constant de bateaux, restes de filets et de cordages).

Pendant les cinq années de surveillance aucune colonie de *Caulerpa taxifolia* n'a été trouvée sur les côtes de la région. Si elle y était présente, la surface des colonies serait inférieure à 5 m² (DE TORRES *et al.*, 1994). En raison du rythme de progression annuelle de *C. taxifolia* en Méditerranée (MEINESZ *et al.*, 1993, 1994 ; MORUCCI *et al.*, 1994 ; BOUDOURESQUE *et al.*, 1996) le risque d'introduction de cette espèce est toujours présent, à cause de la proximité de sites colonisés par *C. taxifolia* aux Baléares mais aussi par la fréquentation de la zone des Baléares par de nombreux pêcheurs de la région.

Tableau I. Sites et années de surveillance du littoral du Pays Valencien. L'emplacement des stations est représentée sur la figure 1. Codes : PL, port de plaisance ; PP, port de pêche ; PC, port commercial ; M, mouillage forain.

N° CODE	LOCALITÉ	ANNÉE
1 PP,	Vinarós	93, 94, 95, 96, 97, 98
2 PP, PL	Benicarló	93, 94, 95, 96, 97, 98
3 PP	Peníscola	96, 97, 98
4 PL	Oropesa-Benicàssim	94, 95, 96, 97, 98
5 PP, PL, PC	Castelló de la Plana	93, 94, 95, 96, 97, 98
6 PP, PL	Borriana	93, 94, 95, 96, 97, 98
7 PP, PC	Sagunt	93, 94, 95, 96, 97, 98
8 PL	Pobla Farnals	97, 98
9 PP, PL, PC	València-Pinedo	93, 94, 95, 96, 97, 98
10 PP, PL	Cullera	96, 97, 98
11 PP, PL, PC	Gandia	93, 94, 95, 96, 97, 98
12 PP, PL, PC	Dènia	93, 94, 95, 96, 97, 98
13 PP, PL	Xàbia	93, 94, 95, 96, 97, 98
14 M	Cala Sardinera	98
15 M	Cap de Sant Martí	96, 97, 98
16 M	Portitxol	97, 98
17 M	Ambolo	97, 98
18 M	Granadella	97, 98
19 PP, PL, M	Moraira	96, 97, 98
20 PP, PL	Calp	93, 94, 95, 96, 97, 98
21 PL	Puerto Blanco	97, 98
22 PL,	Mascarat	93, 94, 95, 96, 97, 98
23 PP, PL	Altea	93, 94, 95, 96, 97, 98
24 M	Pointe de l'Albir	93, 94, 95, 96, 97, 98
25 M	Stat. Epuration Benidorm	97, 98
26 M	Benidorm- Serra Gelada	93, 94, 95, 96, 97, 98
27 PL	Benidorm- Canfali	93, 94, 95, 96, 97, 98
28 M	Cala de Finestrat	95, 96, 97, 98
29 M	Racó de Conill	95, 96, 97, 98
30 PP, PL, M	La Vila Joiosa	93, 94, 95, 96, 97, 98
31 PP, PL	El Campello	94, 95, 96, 97, 98
32 PL, M	La Albufereta	93, 94, 95, 96, 97, 98
33 M	Alacant-Postiguat	93, 94, 95, 96, 97, 98
34 PP, PL, PC	Alacant-Port	97, 98
35 PP, PL, PC	Santa Pola	93, 94, 95, 96, 97, 98
36 PP, M	Tabarca	96, 97, 98
37 PP, PL, PC	Torreveija	93, 94, 95, 96, 97, 98
38 PL, M	Cabo Roig	94, 95, 96, 97, 98
39 PL, M	El Pilar de la Horadada	94, 95, 96, 97, 98
Total localités/années		20 24 26 31 38 39

Après la première campagne de sensibilisation faite en 1993 et 1994, avec la distribution des documents de sensibilisation (BALLESTEROS *et al.*, 1996) de nombreuses signalisations ont été faites mais aucune ne correspondait à *Caulerpa taxifolia*. Pendant la surveillance réalisée en 1995 plusieurs colonies de *Caulerpa ollivieri* Dostal ont été trouvées dans la station 32 (Albufereta), une anse très abritée.

BIBLIOGRAPHIE

AVON M.F., HENOCKE Y., SAUZADE D., DENIS J., DIMEET J., CIAPETTI N., SKIERNIEWSKI E., 1994. Algue *Caulerpa taxifolia* : qualification des techniques d'éradication. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 323-326.



Figure 1. Localisation des 39 sites de surveillance de *Caulerpa taxifolia* au Pays Valencien.

BALLESTEROS E., ARANDA A., POU S., GRAU A.M., RIERA F., PEREZ-RUZAF A., RODRIGUEZ-HIRALDO C., 1996. Valoración de la campaña de sensibilización y vigilancia sobre la invasión de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh en las costas mediterráneas españolas.. *Second Int.*

Workshop on *Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 63-66.

BOUDOURESQUE C.F., BALLESTEROS E., CINELLI F., HENOCKE Y., MEINESZ A., PESANDO D., PIETRA F., RIBERA M.A., TRIPALDI G., 1996. Synthèse des résultats du programme CCE-Life "Expansion de l'algue verte tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée". *Second Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 11-57.

DE TORRES M., DELGADO O., WEITZMANN B., MARTIN D., MALDONADO M., RIBERA G., SANT N., BALLESTEROS E., 1996. Surveillance programme on the introduction of *Caulerpa taxifolia* in the catalan coast. Years 1992-1994. *Second Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 67-73.

ESCOUBET P., BRUN V., 1994. Utilisation de la carboglace et des ultrasons comme source d'erradication de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 333-337.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol. Acta*, France 14 : 415-426.

MEINESZ A., DE VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. Appl. Phycol.* 5 : 141-147.

MEINESZ A., DE VAUGELAS J. de, COTTALORDA J.M., BENICHO L., BLACHIER J., CAYE G., CHAMBET P., DELAHAYE L., FEVRE M., GARIN S., KOMATSU T., LEMÉE R., MARI X., MOLENAAR H., PERNEY L., PIETKIEWICZ D., 1994. Suivi de l'invasion de l'algue *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée. Situation au 31 décembre 1993. *LEML Univ. Nice Sophia Antipolis et GIS Posidonie*, France : 100 pp.

MORUCCI C., SANDULLI R., TRIPALDI G., CASOLINO R., CINELLI F., PROIETTI-ZOLLA A., BENEDETTI-CECCHI L., DELLA PIETA F., 1994. Primi risultati della campagna de sensibilizzazione e localizzazione attiva europea sulla propagazione di *Caulerpa taxifolia*. Situazione lungo le coste italiane alla fine 1993. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 127-132.

POU S., BALLESTEROS E., DELGADO O., GRAU A.M., RIERA F., WEITZMANN B., 1993. Sobre la presencia del alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (Caulerpales, Chlorophyta) en aguas costeras de Mallorca. *Boll. Soc. Hist. Nat. Balears* 36 : 83-90.

RIERA F., POU S., GRAU A.M., DELGADO O., WEITZMANN B., BALLESTEROS E., 1994. Erradication of a population of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 327-331.

SANT N., DELGADO O., RODRIGUEZ-PRIETO C., BALLESTEROS E., 1994. The effects of desiccation on photosynthesis of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 315-319.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Incidence de l'algue introduite *Caulerpa taxifolia* sur le phytobenthos de Méditerranée Occidentale : 2. Les peuplements d'algues photophiles de l'infralittoral. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 349-353.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1994. Incidence de l'algue introduite *Caulerpa taxifolia* sur le phytobenthos de Méditerranée Occidentale : 1. L'herbier de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *First Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 343-347.

«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001 : 85-91

ZAVODNIK N., TRAVIZI A., JAKLIN A., LABURA Z., 1998. *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the North Adriatic sea at Malinska (Krk island, Croatia). *Third Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., F. Palluy eds., GIS Posidonie Publ., France : 175-184.

ŽULJEVIĆ A., ANTOLIĆ B., ŠPAN A., 1998. Spread on the introduced tropical green algae *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Starigrad bay (island Hvar, Croatia). *Third Int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., F. Palluy eds., GIS Posidonie Publ., France : 51-59.

MONITORING OF A SHALLOW WATER POPULATION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* (VAHL) C. AGARDH IN PORTO PETRO (MALLORCA, BALEARIC ISLANDS) : DATA FROM 1998

Enric BALLESTEROS, Susana PINEDO & Maria GARCIA

Centre d'Estudis Avançats de Blanes - CSIC. E-17300 Blanes, Girona, España

ABSTRACT

The presence of *Caulerpa taxifolia* in the Balearic islands has been known since 1992 and today it extends over 30 ha in two localities situated to the south of Mallorca. In Porto Petro *Caulerpa taxifolia* thrives in Sa Platja, a shallow, extremely sheltered bay where it coexists with *Caulerpa prolifera*. We used a quadrat method to launch a monitoring programme on the abundance of the two species in the bay along three transects and we performed several biomass and density measurements to be related with the values obtained with the quadrat method. The quadrat method has proved useful for low biomass and density values, which was the case in our study, since it allows a large number of replicates to be taken *in situ*. The following findings were obtained from our study carried out in October 1998: *Caulerpa prolifera* was always more abundant than *Caulerpa taxifolia*, with percentage presences of 69 % versus 17 %, biomass values of 21.1 versus 2.1 g dry weight.m⁻² and frond densities of 956 versus 53.m⁻², respectively. *Caulerpa prolifera* fronds were longer than those of *Caulerpa taxifolia* but they were more slender. Comparison of these data with data reported in the literature shows that the development of the two species of *Caulerpa* in Sa Platja is slight and that there are no signs of outcompetition of *Caulerpa prolifera* by *Caulerpa taxifolia*.

RÉSUMÉ

La présence de *Caulerpa taxifolia* aux îles Baléares est connue depuis 1992 et elle s'étend jusqu'à présent sur 30 ha dans deux localités du sud de Mallorca. A Porto Petro, *C. taxifolia* se trouve à "Sa Platja", une baie peu profonde, extrêmement abritée, cohabitant avec *Caulerpa prolifera*. Nous avons utilisé la méthode des quadrats afin de suivre l'abondance de ces deux espèces le long de trois transects dans cette baie. Nous avons également fait plusieurs mesure de biomasse et de densité pour les comparer à celles réalisée avec les quadrats. La méthode des quadrats est très utile lorsque les valeurs de biomasse et de densité sont faibles, ce qui est le cas dans notre étude, elle permet de faire un grand nombre de répliquats *in situ*. Les données suivantes sont celles recueillies en octobre 1998 : *Caulerpa prolifera* elle toujours plus abondante que *Caulerpa taxifolia*, avec des pourcentages de présence de 69 % contre 17 %, des valeurs de biomasse de 21.1 contre 2.1 g poids sec.m⁻² et une densité de frondes de 956 contre 53.m⁻² respectivement. Les frondes de *C. prolifera* sont plus longues que celles de *C. taxifolia* mais elles sont plus minces. La comparaison de ces données avec les données de la littérature montre que le développement des deux espèces de *Caulerpa* à "Sa Platja" est rare et qu'il n'y a pas de signe de compétition de *C. taxifolia* contre *C. prolifera*.

INTRODUCTION

According to several works (MEINESZ & HESSE, 1991; MEINESZ *et al.*, 1993; VERLAQUE & FRITAYRE, 1994; VILLÈLE & VERLAQUE, 1995) benthic Mediterranean communities dominated by algae and seagrasses are being replaced by meadows of the green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in invaded areas. Since 1992 this species occurs in Mallorca (POU *et al.*, 1993) and several eradication missions have been unsuccessful (RIERA *et al.*, 1994; GRAU *et al.*, 1996). At the end of 1997 *C. taxifolia* occurred in two different localities: Cala d'Or and Porto Petro (GRAU *et al.*, 1998), covering a total concerned area of 30 ha.

Caulerpa taxifolia was sighted in Porto Petro in 1995 and at present it extends over the innermost part of the bay thriving in communities dominated by *Posidonia oceanica* (L.) Delile, *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux, dead rhizome of *P. oceanica* and photophilic algal communities on rocky bottoms. In October 1998, *C. taxifolia* was never the dominant species but coexisted with *C. prolifera* in the shallowest parts of the bay. With this study we initiate a monitoring programme of the populations in order to document possible future changes in the relative dominances of the both species.

MATERIAL AND METHODS

Porto Petro is a small, irregular bay located on the southern coast of Mallorca (39°21'50" N, 3°13'13" E) (fig. 1). Most of the bay is urbanized and there is a small harbour at the western side. North of the harbour there is a sheltered basin, known as "Sa Platja", 70 m wide and 250 m long, with very shallow waters (0 to 2 m depth), whose seabed was covered by a meadow of *Caulerpa prolifera* with some shoots of the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers before the arrival of *Caulerpa taxifolia* in 1995 (author's unpublished results). *Caulerpa prolifera* beds are very common in the bays of the Balearic Islands and are extensively described in the literature (RIBERA, 1983; BALLESTEROS, 1990, 1993; RIBERA *et al.*, 1997). Nowadays, there is a mixed meadow constituted of the two species of *Caulerpa* which has been the subject of our study.

Three different transects 50 m long were performed on 15 and 16 October 1998 in Sa Platja: outer (T1), middle (T2) and inner (T3) (fig. 1). The relative presence of each species of *Caulerpa* was measured by means of 25 cm x 25 cm quadrats, divided in 25 subquadrats of 5 cm x 5 cm. Groups of ten quadrats were positioned at 10 m intervals within the transects (at meters 0, 10, 20, 30, 40 and 50 meters), making a total of 60 quadrats for each transect. The percentage of subquadrats in which each species appeared was recorded and used as the unit of measure. If the species appeared in all 25 subquadrats, this would give a percentage presence of 100 %, whereas the total lack of a species would produce a percentage presence of 0 % (SALA & BALLESTEROS, 1997). Presence of each species in each group of quadrats was then calculated as the mean of the percentage presence values of the ten quadrats sampled. Presence of each species at each transect has been estimated as the mean of the percentage presence values of all the 60 sampled quadrats.

Fronds, stolons and rhizoids of both species of *Caulerpa* were collected in five quadrats of each transect after recording the presence of each species. Samples were cleaned of sediment and detritus *in situ*, fixed in 4 % formaldehyde: seawater, and sorted in the laboratory. Abundance of each species was quantified as dry biomass for aboveground (fronds) and belowground biomass (rhizoids and creeping stolons) (48 hours at 70 °C). The total number of fronds per sample and the length of each frond were also measured.

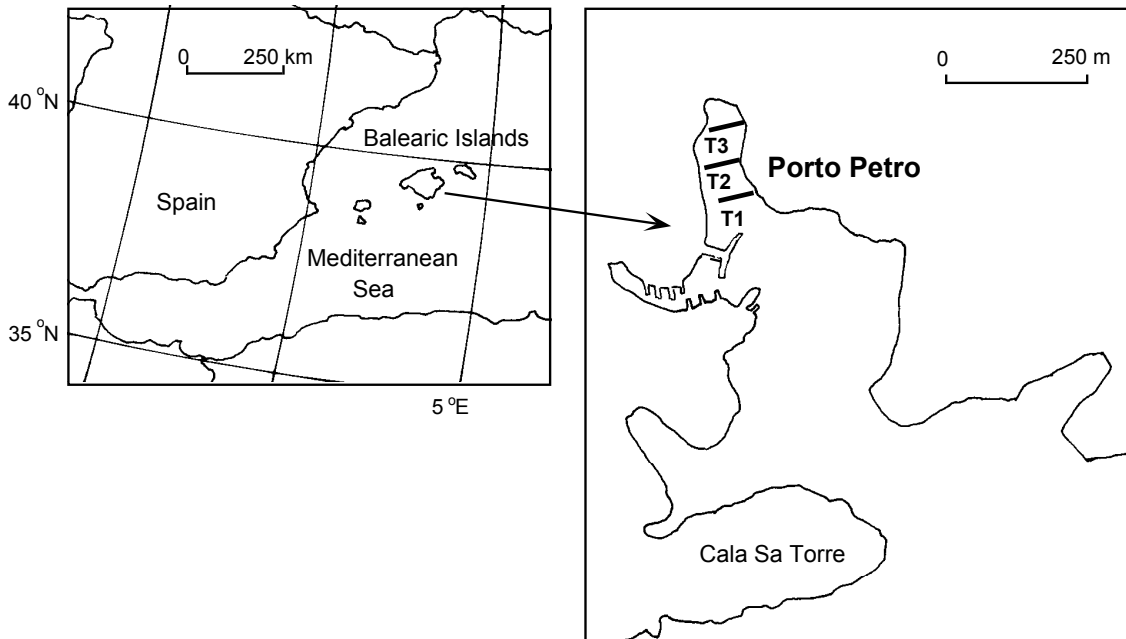


Figure 1. Location of Porto Petro and situation of the three transects.

RESULTS

There are no differences in the percentage presence of the two species of *Caulerpa* in the three transects (*C. prolifera*, $p > 0.6$; *C. taxifolia*, $p > 0.4$). *Caulerpa prolifera* (presence average of 69 %) is always more abundant than *Caulerpa taxifolia* (presence average of 17 %) (tab. I).

Mean biomass and mean number of fronds for both species of *Caulerpa* in "Sa Platja" can be estimated taking into account the values of percentage presence from table I and the relationships displayed in figures 2 and 3. Biomass of *Caulerpa prolifera* is ten-fold bigger than biomass of *Caulerpa taxifolia* (21.1 versus 2.1 g.m⁻²), while differences in the number of fronds are even higher (956 versus 53 fronds.m⁻²). Fronds of *Caulerpa prolifera* were also longer than those of *C. taxifolia* (5.6 cm versus 4.0 cm; $n = 1010$ for *C. prolifera*; $n = 485$ for *C. taxifolia*), but fronds of *C. taxifolia* were more robust than those of *C. prolifera* (39 mg versus 22 mg dry weight.frond⁻¹). The ratio between above and belowground biomass is the same for the two species (2.78 for *Caulerpa taxifolia*; 2.82 for *Caulerpa prolifera*).

Table I. Percentage of presence for *Caulerpa prolifera* and *C. taxifolia* at each group of ten quadrats for the three transects performed. Differences between transects are non-existent (*C. prolifera*, $p > 0.6$; *C. taxifolia*, $p > 0.4$).

		0 m	10 m	20 m	30 m	40 m	50 m	Mean
<i>Caulerpa prolifera</i>	T1	99.6	59.6	61.6	96.0	92.8	20.0	71.6
	T2	1.2	40.4	95.2	76.8	45.2	92.4	58.4
	T3	40.0	98.0	52.0	74.4	100.0	93.6	76.4
<i>Caulerpa taxifolia</i>	T1	6.4	32.4	29.2	12.8	30.4	24.0	22.4
	T2	3.2	16.0	1.6	29.2	1.2	31.2	13.6
	T3	36.8	21.6	4.4	10.8	0.4	7.6	13.6

DISCUSSION

The quadrat method proved useful to perform an exhaustive and rapid evaluation of the abundance of *Caulerpa prolifera* and *Caulerpa taxifolia* in Sa Platja. However, given the results displayed in figures 2 and 3, this method does not discriminate when biomass and density are very high since percentage presences of 100 % can include a wide range of high biomass and density values. Therefore, we conclude that the quadrat method is a good sampling device to quickly obtain replicates of abundance of *Caulerpa* (and other several benthic species) unless the recorded species are completely dominant; in the latter case we recommend biomass measures as giving good discrimination between abundances.

Biomass of *Caulerpa taxifolia* in Sa Platja is 2.1 g dry weight.m⁻², which is very low when compared with other Mediterranean populations, where biomass ranging between 200 and 800 g dry weight.m⁻² are regularly reported (MEINESZ & HESSE, 1991; POU *et al.*, 1993; VERLAQUE & FRITAYRE, 1994; VIILÈLE & VERLAQUE, 1995; MEINESZ *et al.*, 1995). On the other hand, it is similar to values reported from New Caledonia lagoons, where values range up to 1.8 g dry weight.m⁻² (GARRIGUE, 1994). A similar trend is apparent with the number of fronds, which averages between 3400 and 8800.m⁻² in other Mediterranean populations (MEINESZ & HESSE, 1991; POU *et al.*, 1993; MEINESZ *et al.*, 1995; ROMANS *et al.*, 1996), 53 fronds.m⁻² in our samples, and up to 35 fronds.m⁻² in New Caledonian populations. Height of the fronds is also low (4 cm average, ranging from 1 to 19 cm) when compared to other Mediterranean populations: 5-13 cm in a sandy area off Cap Martin (MEINESZ *et al.*, 1995); 60-65 cm in a *Posidonia oceanica* meadow off Cap Martin (VIILÈLE & VERLAQUE, 1995); 25 cm in a photophilic algal community off Cap Martin (VERLAQUE & FRITAYRE, 1994); 10-12 cm in the Brusc lagoon (VICENTE *et al.*, 1993); and 15 cm on the muddy bottoms of the harbour of Saint Cyprien (ROMANS *et al.*, 1996). In this aspect it is also more closely related to plants from New Caledonia, where heights from 2 to 10 cm are reported by GARRIGUE (1994).

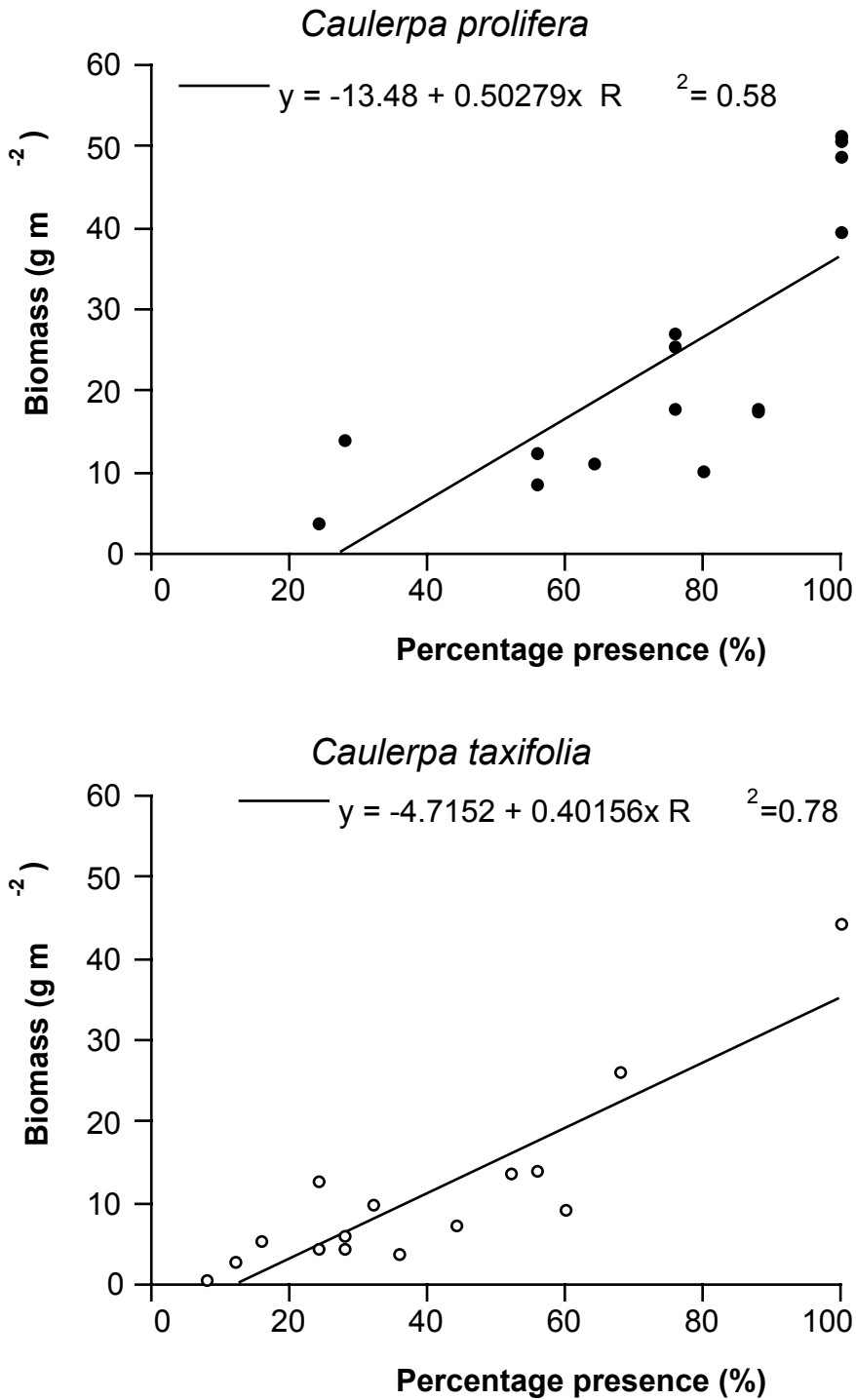


Figure 2. Relationship between the percentage presence and the total biomass (fronds + stolons + rhizoids) in *Caulerpa prolifera* and *C. taxifolia* (n = 15).

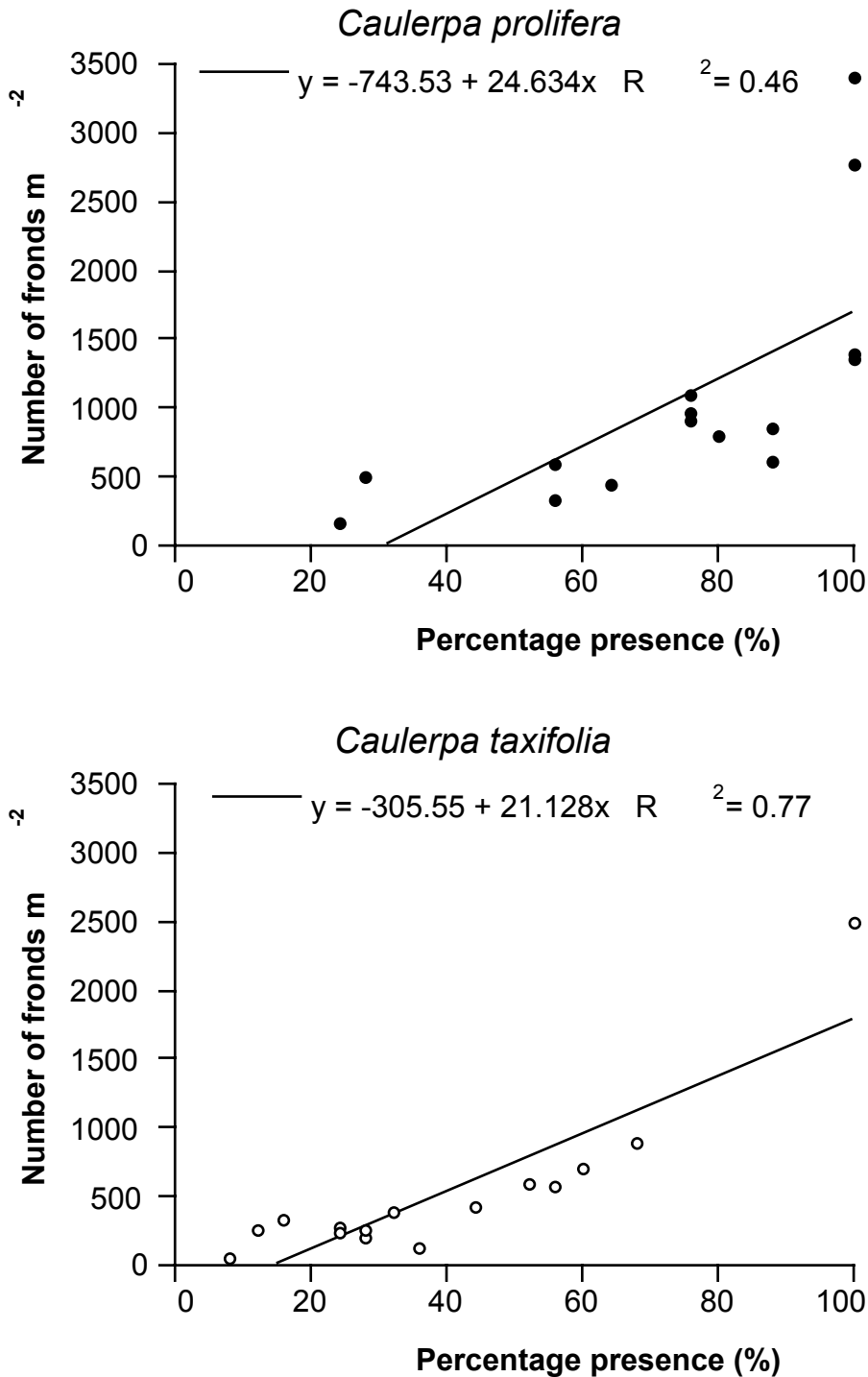


Figure 3. Relationship between the percentage presence and the number of fronds in *Caulerpa prolifera* and *C. taxifolia* (n = 15).

Biomass and density of *Caulerpa prolifera* in Sa Platja is also very low when compared to values reported from other mediterranean localities (GESSNER & HAMMER, 1960; MEINESZ, 1979; BALLESTER, 1985; BALLESTEROS, 1990; TERRADOS & ROS, 1995). Both *Caulerpa prolifera* and *Caulerpa taxifolia* are able to grow and reach high

biomass and densities in habitats similar to those found in Sa Platja (MEINESZ, 1979; MEINESZ & HESSE, 1991; POU *et al.*, 1993; TERRADOS & ROS, 1995) and we have no explanation for the low development of the two species. The extremely sheltered and shallow conditions of Sa Platja could prevent greater growth, due to sudden temperature increases in summer which could be lethal to *Caulerpa* (GACIA *et al.*, 1996; KOMATSU *et al.*, 1997), but this has to be tested. However, whatever the reasons, *Caulerpa prolifera* dominates over *Caulerpa taxifolia*. Since *C. taxifolia* seems to be in regression in Sa Platja according to the observations made by LAFITTE (1998), our data will be critical to properly assess future changes in these populations.

Acknowledgements: The field support of Ramón ALOS and his ship *Rael* is kindly acknowledged.

REFERENCES

- BALLESTER R., 1985. Biomasa, estacionalidad y distribución de tres macrófitos: *Ruppia cirrhosa*, *Cymodocea nodosa* y *Caulerpa prolifera* en el Mar Menor (Murcia, SE de España). *Anal. Biol.* 4 : 31-36.
- BALLESTEROS E., 1990. Els herbeis de *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux de la badia de Pollença (Mallorca, Mediterrània Occidental). *Boll. Soc. Hist. Nat. Balears* 33 : 99-116.
- BALLESTEROS E., 1993. Algues bentòniques i fanerògames marines. Alcover J.A., Ballesteros E., Fornós J.J. eds. *Història Natural de l'arxipèlag de Cabrera*. CSIC-Ed. Moll. Palma de Mallorca. Mon. Soc. Hist. Nat. Balears, Spain 2 : 503-530.
- GACIA E., RODRIGUEZ-PRIETO C., DELGADO O., BALLESTEROS E., 1996. Seasonal light and temperature responses of *Caulerpa taxifolia* from the Northwestern Mediterranean. *Aquat. Bot.* 53 : 215-225.
- GARRIGUE C., 1994. Biomasse et répartition de *Caulerpa taxifolia* dans les lagons de Nouvelle-Calédonie. *Oceanologica Acta* 17 : 563-569.
- GESSNER F., HAMMER L., 1960. Die Primärproduktion in Mediterranean *Caulerpa-Cymodocea* wiesen. *Bot. Mar.* 2 : 157-160.
- GRAU A.M., POU S., RIERA F., PASTOR E., BALLESTEROS E. 1996. Monitoring of the population of *Caulerpa taxifolia* in Cala d'Or (Mallorca, Western Mediterranean) : situation at the end 1994. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 131-133.
- GRAU A., RIERA F., POU S., BALLESTEROS E. 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes espagnoles de la Méditerranée: situation au 31 décembre 1997. *Suivi de l'invasion de Caulerpa taxifolia en Méditerranée : situation au 31.12.1997*. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiavérini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML-UNSA Publ., France : 205-210.
- KOMATSU T., MEINESZ A., BUCKLESS D., 1997. Temperature and light responses of alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 146 : 145-153.
- LAFITTE D., 1998. *Caulerpa taxifolia* en Mallorca. Unpublished Document. Palma de Mallorca.

- MEINESZ A., 1979. Contribution à l'étude de *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux (Chlorophycée, Caulerpales). III. Biomasse et productivité primaire dans une station des côtes continentales françaises de la Méditerranée. *Bot. Mar.* 22 : 123-127.
- MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol. Acta* 14 : 415-426.
- MEINESZ A., VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. Appl. Phycol.* 5 : 141-147.
- MEINESZ A., BENICHOU L., BLACHIER J., KOMATSU T., LEMÉE R., MOLENAAR H., MARI X., 1995. Variations in structure, morphology and biomass of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea. *Bot. Mar.* 38 : 499-508.
- POU S., BALLESTEROS E., DELGADO O., GRAU A., RIERA F., WEITZMANN B., 1993. Sobre la presencia del alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh en aguas costeras de Mallorca. *Boll. Soc. Hist. Nat. Balears* 36 : 83-90.
- RIBERA G., COLOREU M., RODRIGUEZ-PRIETO C., BALLESTEROS E., 1997. Phytobenthic assemblages of Addaia Bay (Menorca, Western Mediterranean) : composition and distribution. *Bot. Mar.* 40 : 523-532.
- RIBERA M.A., 1983. *Estudio de la flora bentónica marina de las islas Baleares*. PhD. Thesis. University of Barcelona, Spain : 636 pp.
- RIERA F., POU S., GRAU A.M., DELGADO O., WEITZMANN B., BALLESTEROS E., 1994. Eradication of a population of the tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in Cala d'Or (Mallorca, Western Mediterranean) : methods and results. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 327-331.
- ROMANS P., VALLS R., BRUSLE J., 1996. Description de l'herbier de *Caulerpa taxifolia* du Port de Saint Cyprien (Pyrénées Orientales) au cours de l'été 1994. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 101-106.
- SALA E., BALLESTEROS E., 1997. Partitioning of space and food resources by three fish of the genus *Diplodus* (Sparidae) in a Mediterranean rocky infralittoral ecosystem. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 152 : 273-283.
- TERRADOS J., ROS E., 1995. Temporal variation of the biomass and structure of *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux meadows in the Mar Menor lagoon (SE Spain). *Sci. Mar.* 59 : 49-56.
- VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanol. Acta* 17 : 659-672.
- VICENTE N., TAIEB N., LELONG P., 1993. Disparition naturelle de l'algue *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusac (Var - France). *Mar. Life* 3 (1-2) : 61-65.
- VILLÈLE X. de & VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the Northwestern Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

CAULERPA TAXIFOLIA: AN ECOLOGICAL PROBLEM TRANSFORMED INTO A SCIENTIFIC INFORMATION ISSUE

G. MATRICARDI ¹, R. PORRO ² & E. PIROLA ³

¹ Università di Genova; Dipartimento di Biologia Sperimentale Ambientale ed Applicata; Viale Benedetto XV, 5 - 16132 Genova, Italy

² Comune di Genova, Assessorato Servizi Educativi, Area Linguaggi; Viale IV Novembre, 6 - 16121 Genova, Italy

³ Scuola Media Statale "C. Durazzo"; Via Antica Romana di Quinto, 63/B - 16166 Genova, Italy

Key words: *Caulerpa taxifolia*, Ligurian sea, scientific information, raising public awareness

ABSTRACT

The media have played a crucial role in the transfer of the information on the spread of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh along the coasts of the Mediterranean; the journalists' lack of complete documentation has often resulted in confusion among members of the public. A constructivistic learning process has been planned with a group of 11-years-old students to attempt to raise awareness among the general public. To form a self-constructed opinion about *C. taxifolia*, the students had first to discuss all the non-specialised information they could find. In the second phase, some key scientific papers have been proposed for critical analysis. A concept map has been constructed to verify the effectiveness of the process. After discussion of the 1998 Heraklion workshop recommendations, the students concluded that their attention to each fact altering the natural equilibrium of the Mediterranean Sea remained strong.

RÉSUMÉ

Les médias jouent un rôle crucial dans le transfert de l'information sur l'expansion de *Caulerpa taxifolia* le long des côtes de la Méditerranée; le manque de documentation complète des journalistes est souvent la cause de confusion chez le lecteur. Un processus d'apprentissage a été planifié avec un groupe d'élèves de 11 ans afin d'approcher la sensibilisation du grand public. Dans un premier temps, afin de se faire une opinion sur *Caulerpa taxifolia*, les étudiants ont discuté l'ensemble de l'information non spécialisée qu'ils ont pu trouver. Dans un second temps, quelques articles scientifiques ont été proposés pour une lecture critique. Une carte des concepts a été établie afin de vérifier l'adéquation du processus. Après discussion des recommandations d'Heraklion de 1998, les élèves ont conclu que leur attention restait élevée, particulièrement sur les faits altérant l'équilibre de la Méditerranée.

INTRODUCTION

In a recent workshop on "Reporting on scientific issues" (BOWMAN, 1998), the Canadian Science Writers' Association stressed that the media dealing with science or the environment must be well versed in the topics they report to a heavily dependent

public; the writer's task must be to present the facts as accurately as possible. The close connection between pertinent information coming from the scientists and an intellectually honest and scientifically correct report from the media writers was discussed.

At the end of January 1998 the local Ligurian press reported on the eradication of a colony of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Gulf of Tigullio, to the east of Genoa (PLEBE, 1998). At that time, this station was the limit of the eastern expansion of the algae in the Ligurian Sea. First reported in 1992 at Imperia (RELINI & TORCHIA, 1992), in 1996 the spread of *C. taxifolia* had been estimated to concern more than 1300 ha, between Ventimiglia and Genova (MEINESZ *et al.*, 1997); in 1997 the area affected by the presence of the alga was estimated to exceed 2600 ha (MEINESZ *et al.*, 1998). The spread of the alloctonous seaweed along the Ligurian coasts was shown to follow the exponential trend described by MEINESZ *et al.* (1997) for the first ten year phase of the colonisation of *C. taxifolia* in the Mediterranean. The news report of the presence of *C. taxifolia* in the Gulf of Tigullio (PLEBE, 1998) informed the public of the "alert of the presence of the killer algae" and of the "assault" against it; the newspaper reported: "Although the scientific community is not yet in agreement, the algae is considered as very dangerous by some experts, who stress that it discharges toxic substances which poison both fishes and man". A few months later, in April 1998, the same newspaper headlined "The killer algae has been rehabilitated: it is not poisonous, it can eliminate pollution" (TURITTO, 1998) and referred to the "ecological and financial scandal regarding caulerpa" originating in a French magazine (DUBRANA & JUBELIN, 1997).

In Italy, owing to the lack of a continuous program of control and surveillance of the spread of the algae since its appearance in 1992 at Imperia, confusion produced by incomplete information from the media has always characterised the public awareness regarding the "caulerpa problem".

National and the international forums consider young people as an important target of the educational public awareness programs on the interaction between human development and the conservation of the natural estate; young people will be the future users or managers of the environment (UNESCO, 1994). During their schooling, the students develop their cultural background which, in the future, will allow them to enjoy and to manage the environment. Several documents issued by the Italian Ministry of Education aim to promote environmental education at school level, developing interdisciplinary programmes which could enhance the public awareness about environmental protection. Recent psychological and educational researches has stressed the transition from the objectivistic to the constructivistic concept of knowledge, which is considered as socially, historically, temporally, culturally and contextually constructed (VARISCO, 1995). The practice of assimilating cultural procedures and instruments during experiences shared with contemporaries or adults, has been shown to make the students' cultural background free and autonomous (VYGOTSKIJ, 1978). So learning becomes a co-operating process involving the capabilities of various subjects, such as pupils, teachers and experts.

The spread of *Caulerpa taxifolia* along the coasts of the Mediterranean is a good case-study for an experience of scientific education at school level: this topical subject concerns the marine environment, which plays a central role in the culture, the economy and the history of coastal populations. The concept of danger, always coupled with the algae in the literature distributed, and the uncertainty regarding the consequences of its spread, excite the interest of the pupils. The debate still dividing the scientific community enhances the importance of self-constructed knowledge.

PLANNING A LEARNING PROCESS

In scientific education, the planning of a learning process based on constructivistic theory must forecast the development, in the students, of the awareness about the role of their interaction with other subjects and of negotiation and mediation in the construction of the knowledge (VYGOTSKIJ, 1978). Group discussion is encouraged, both between contemporaries and with adults (the teacher, the experts); their background knowledge, derived from previous daily interaction with parents, teachers, other people and the media, will emerge from this discussion. The adults (the teacher, the experts) are members of the learning group, and participate in the discussion sharing their knowledge with the students. The hypothesis on the scientific problem, produced by the discussion, will be validated by experiments designed by the group of learners, to allow the inclusion of knowledge within the disciplinary framework. The influence of the media on the cultural process must be explored to stress the importance of technological and cultural instruments for mediated knowledge (OLSON, 1979). Misunderstandings and incomplete information are often the results of the inadequate documentation used by the media reporters; the correction of the bias they produce in the cultural background of the learners is difficult (VYGOTSKIJ, 1978), but must be attempted to promote well-informed behaviours.

Communication of the knowledge attained is a crucial phase of the process, during which the learning subjects re-organise the information to be transferred to (and to be understood by) other people. In this phase, the use of different languages emphasizes the interdisciplinary nature of culture and stresses that it is disseminated by interpersonal exchanges (OLSON, 1979).

Several methods have been proposed to verify the effectiveness of the learning processes; among them, concept maps (NOVAK & GOWIN, 1984) combine control of the educational process with the evidence of the significance of the knowledge, forcing each component of the learning community (students, teachers and experts) to reflect upon its content and structure. The map highlights the hierarchical connections between the concepts composing the knowledge.

A LEARNING PROCESS ABOUT *CAULERPA TAXIFOLIA*

The project we discuss involved a class of the "Scuola Media Statale C. Durazzo" (a secondary school in Genoa) during the years 1996-1998. The interest in the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Ligurian Sea lead the students to collect bibliographical

information from the media (newspapers, magazines and television). Great confusion arose from reading of the contradictory information reported, so the learning group turned to marine biology and didactics experts to seek “the truth” about this ecological problem. A learning process was planned to construct the construction of an autonomous and free understanding of the facts by the students. The constructivistic theory was the reference background for the project: the plan involved the collection of information, its discussion, the proposal of hypotheses, their experimental validation and the transfer of the acquired knowledge to the public by means of some kind of report. The following paragraphs in italics present the contents of the report written by the students themselves, to allow the reader an insight into their learning process.

"At the beginning of the secondary school year, in 1996, our science teacher presented to us the problem of the invasion of C. taxifolia in the Mediterranean Sea. In our science book there was a chapter about plants which contained certain information about the algae, the phytocoenoses and the problems of phytogeography. There was also a picture of an algae of the genus Caulerpa. At that time we read in the newspapers that C. taxifolia, also called "killer alga" had been found in Varazze (near Genoa). We decided to study this alga for two reasons: 1) we were attracted by the idea of tackling real scientific research on our own environment, and also because the newspapers reported that various hypotheses existed, but were unclear and incomplete; 2) the definition "killer alga" sounded quite intriguing, and we were a bit scared of the possible dangers that could affect us. We then decided to ask for the help of some experts in marine biology, communication and didactics. We started collecting information by reading articles in scientific magazines and newspapers, but we soon realised that they did not agree with one another. We thought that the biologist could tell us how things really were; instead, he suggested that we should read some scientific reprints written by other scientists, discuss the problems with him and try to arrive at our own conclusions."

Constructivism states that knowledge is built up by the learning subject himself. To furnish less biased and more detailed information, we proposed to the group to analyse some scientific reprints dealing with the caulerpa problem (DOUMENGE, 1995; GIACCONE & DI MARTINO, 1995; MEINESZ & HESSE, 1991; RIGGIO, 1995; SANDULLI *et al.*, 1995; VERLAQUE, 1994). The following discussion stressed the disagreement still existing between the researchers, and gave rise to the process of the construction of the group's own opinion. The visits to the Aquarium in Genoa, in which *C. taxifolia* is exhibited, and to the sea shore supported this phase of the project.

"It was exciting to enter the world of science and to discover that there is not a majority of scientists who say that the spread of caulerpa is dangerous for the Mediterranean; we did not imagine that the researchers were still arguing about the causes and the effects of the problem, without finding agreement. It was difficult to build up our own idea on the presence of the killer alga in our sea: it is easy to be misled by what one reads, it is difficult to be well informed. We discovered that where caulerpa is present, the other species (both plants and animals) disappear. We read that it does not seem toxic for all marine organisms, and we decided that it would be better extend our research on its toxicity. We were surprised at the speed of its spread on the sea bottom; the biologist showed us the various methods used (unsuccessfully) to try to stop it. Some

*of us suggested we should wait for some years to see what would happen, but we noticed that it keeps on spreading along the coast. We also asked ourselves if it would be so dangerous in environments with no life forms, such as in a port, but some of us said that from the port it could spread into other surroundings. To better understand this alga and its method of occupying the marine bottom, we did some field research on the beach and visited the Genoa Aquarium where *C. taxifolia* is exhibited."*

To build up knowledge starting from the learner's own experience implies a deep reflection about the experiences themselves. During this phase of the learning process, the construction of a concept map on *C. taxifolia* (fig.1) was performed, ranking in a descending inclusive order the concepts arising from the knowledge of the students and linking them in simple sentences. The map summarises the results of the learning process carried out by the group of students, allowing the effectiveness of the project and its impact to be assessed. In the map, "killer alga" is the most inclusive concept connected with *C. taxifolia*, showing the deep impact of the media message on the non-expert public; this concept is more important than "green algae" or "polluting" element; the "pollution" concept is included in harmfulness, which, in the culture of the students, is a typical feature of this "blooming" alga. The pollution concept includes the "anomalous" presence of the seaweed in the Mediterranean and the interest of research on its spread; the study of its possible usefulness has been proposed by a member of the group, for future research. The "danger" for the "not stoppable" expansion of *Caulerpa* and for its "toxicity" are more inclusive concepts, directly connected with the "killer" nickname of the alga; its "not stoppable" expansion and "toxicity" are considered, by some members of the group, to be more important than identification of those responsible for its discharge in the Mediterranean.

Scientific education requires frequent review of the available information, in step with the progress of the research. In the final phase of the project, the "Heraklion conclusions and recommendations" (MEINESZ *et al.*, 1998) provided the learning group with the current discussion on *Caulerpa*, showing the effort of several nations around the Mediterranean Sea to deal with the problem on the basis of shared knowledge and common aims.

CONCLUSIONS

The essential problem of scientific education is not only to improve the understanding of disciplinary concepts and to train new scientists and technicians, but also to spread among non-specialists the ability to screen information from the media and to participate intelligently in the decisions about on the use of environmental resources and the results of scientific and technological research.

In Italy, because of the lack of a continuous research program, the media have played a heavy role in the transfer of information to the public; the journalists' incomplete documentation has often caused great confusion among members of the public. So, raising the awareness of the general public on the spread of *C. taxifolia* has become one of the key objectives of projects for monitoring this ecological problem.

The learning process we proposed to the students supported the scientific curriculum of the class, allowing them to experience the scientific method and to construct knowledge which was significant for the learners themselves. The discussion of the evidence of differences arising from comparison between the scientific articles and the media information analysed, promoted an aware learning approach in the group.

The analysis of the concept map and of the final report written by the students enabled us to verify the positive impact of the process on the students' knowledge. Some basic ecological concepts have been understood in depth: pollution includes the fact that an anomaly occurs in the system, and is directly linked with the concept of harm. The danger for the expansion of *C. taxifolia* along the Mediterranean coasts includes the difficulty of controlling it. The nickname "killer alga" is related to the seaweed as a linguistic definition; its meaning is connected more with the disappearance of other marine species in the affected areas than with its toxicity. During the map construction, both the teacher and the experts involved in the project had to organise their knowledge, before placing it at the group's disposal.

Any further consideration regarding the project can be well summarised by the conclusions drawn by the students themselves:

"This year, after the biologist brought us up to date on the spread of C. taxifolia and research on the alga, we tried to draw our own conclusions.

For us the caulerpa problem is not one to be ignored: it is still difficult to know whether the spread of the alga will stop; the researchers themselves are not in agreement and the methods used so far to fight against it have proved almost useless. We agree that its presence causes the disappearance or the suffocation of many species (both animals and plants) on the sea bottom, damaging the environment. Fortunately, it is not toxic for man and for many species which live in the sea. Even though it seems clear that it was introduced into the sea waters in front of the Monaco Aquarium, some of us think that it is wrong to try to find who is responsible for its presence. We have understood that it is an alga which has been altered by man to embellish some artificial environments, such as fish ponds, and these alterations have become a problem when caulerpa has entered the natural environment. We were sorry to learn that in Italy it is still possible to buy C. taxifolia in shops which sell aquarium supplies: some bits of the alga might be dropped somewhere into the sea, speeding up the spread of the alga along our coastline. We were very interested in this problem because we love nature and we would not like to upset the balance of an environment so rich, fascinating and singular as the Mediterranean Sea, and we will always endeavour to respect it and pass on our feelings to future generations."

REFERENCES

BOWMAN M., 1998. Reporting on scientific issues. *Science Link*, Canada, 18 (3). Web site : <http://www.interlog.com>

- DOUMENGE F., 1995. Quelques réflexions sur les algues caulerpes. *Biol. Mar. Medit.*, Italy 2 (2) : 613-633.
- DUBRANA D., JUBELIN F., 1997. Les bonnes affaires de la caulerpe. *Science et Vie*, France 963 : 15 pp.
- GIACCONE G., DI MARTINO V., 1995. Le caulerpe in Mediterraneo : un ritorno del vecchio bacino tideo verso il dominio indo-pacifico. *Biol. Mar. Medit.*, Italy 2 (2) : 607-612.
- MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée. Situation au 31 décembre 1996. Ed. *Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis*, France : 190 pp.
- MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., CASSAR N., VAUGELAS J. de, 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée. Situation au 31 décembre 1997. Ed. *Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis*, France : 238 pp.
- MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica acta* 14 (4) : 415-426.
- NOVAK J.D., GOWIN D.B., 1984. Learning how to learn. *Cambridge University Press*, Cambridge (UK).
- OLSON D.R., 1979. Linguaggi, media e processi educativi. *Loescher*, Italy.
- PLEBE A., 1998. Allarme sub nel Tigullio. *Il Secolo XIX*, Genova, Italy, 30/1/1998.
- RELINI G., TORCHIA G., 1992. Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* in acque italiane. *Doriana*, Italy, 6 (279) : 1-4.
- RIGGIO S., 1995. Il caso delle caulerpe : immigrazioni recenti e parallelismi con le invasioni di terraferma nell'area mediterranea. *Biol. Mar. Medit.*, Italy, 2 (2) : 593-605.
- SANDULLI R., MORUCCI C., TRIPALDI G., CINELLI F., PROIETTI-ZOLLA A., BENEDETTI-CECCHI L., DELLA PIETA F., 1995. Distribuzione dell'alga tropicale *Caulerpa taxifolia* nelle acque italiane : situazione al dicembre 1993. *Biol. Mar. Medit.*, Italy, 2 (2) : 409-410.
- TURITTO A., 1998. Riabilitata l'alga assassina. *Il Secolo XIX*, Genova, Italy, 2/4/1998.
- UNESCO (Ed.), 1994. Innovations in science and technology education. Vol.5, Unesco, France.
- VARISCO B.M., 1995. Paradigmi psicologici e pratiche didattiche con il computer. *Tecnologie Didattiche*, Italy, 7 : 57-68.
- VERLAQUE M., 1994. Le développement de l'algue *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *Les Entretiens de Segur*, France, 21/3/1994 : 15 pp.
- VYGOTSKIJ L.S., 1978. Mind in society. *Harvard University Press*, Cambridge (MA).

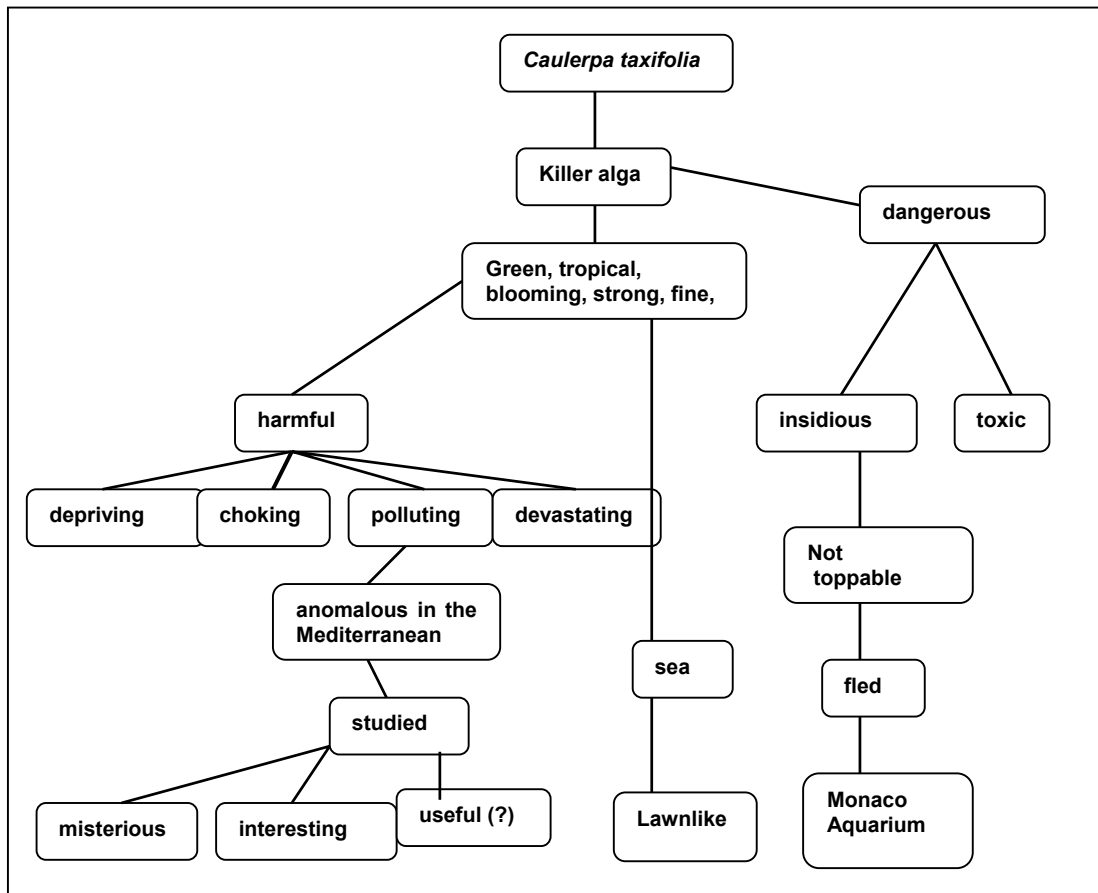


Figure 1. Concept map of the knowledge of the students about *Caulerpa taxifolia*.

«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001

BIOLOGY, TOXICOLOGY, ECOLOGICAL CONSEQUENCES

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

THE ROLE OF VEGETATIVE FRAGMENTS IN THE RECRUITMENT PROCESS OF *CAULERPA TAXIFOLIA* AND *CAULERPA RACEMOSA*

Giulia CECCHERELLI, Luigi PIAZZI & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, via A. Volta 6 Pisa,
56126 Italia

ABSTRACT

Caulerpa taxifolia and *C. racemosa* are fast spreading introduced species in the Mediterranean. Although they are able to reproduce both sexually and asexually, the former modality has never been observed in the Mediterranean and for both species asexual reproduction is considered to be the most prevalent. Asexual reproduction can occur by fragmentation and re-establishment. Although the dispersal and re-establishment potential of vegetative fragments of both species has not been evaluated experimentally we believe it could be an important aspect of their population biology. *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* thalli are fragmented naturally and also by human activity. The aim of this study was to determine the potential for fragmentation to serve as a recruitment process for both species. Our experimental approach consisted, per replicate; in dispersing 20 fragments of *C. taxifolia* and *C. racemosa* along a *Posidonia oceanica* margin 3 m long and monitoring the number of fragments re-established after 1 month. Results have shown an high variability in the re-settlement of fragments depending on the site where they occur and meteorological conditions. Also differences among seasons were highlighted by the analysis for both species and the probability of re-attachment of fragments in summer was shown to be the highest.

RÉSUMÉ

Caulerpa taxifolia et *C. racemosa* sont deux Bryopsidophyceae introduites en Méditerranée. Bien qu'elles soient capables de se multiplier végétativement et de se reproduire sexuellement, ce dernier mécanisme n'a jamais été observé en Méditerranée. La multiplication végétative s'effectue par fragmentation et régénération des stolons. Bien que la dispersion et la régénération des fragments végétatifs des deux espèces n'aient pas été évaluées expérimentalement, nous croyons que ces mécanismes peuvent représenter un aspect important pour la biologie de leur population. Les thalles de *C. taxifolia* et de *C. racemosa* sont fragmentés à la suite de causes naturelles ou liées aux activités humaines. Cette étude a pour but l'évaluation de l'importance de la fragmentation dans le recrutement des deux espèces. Après dispersion à proximité de la limite d'un herbier à *Posidonia oceanica*, le pourcentage des fragments de *C. taxifolia* et de *C. racemosa* réimplantés a été évalué après un délai d'un mois. Les résultats ont montré une haute variabilité dans le régénération des fragments par rapport au site et aux conditions météorologiques. Pour les deux espèces la probabilité de régénération a été plus grande pendant l'été.

INTRODUCTION

Caulerpa taxifolia (Vahl) C. Agardh and *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh are fast-spreading introduced species in the Mediterranean (MEINESZ & HESSE, 1991; BOUDOURESQUE *et al.*, 1992; MEINESZ *et al.*, 1993; PIAZZI *et al.*, 1997) interfering especially with seagrass beds (*Posidonia oceanica* (L.) Delile and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson) (VILLÈLE & VERLAQUE, 1995; CECCHERELLI & CINELLI, 1997; CECCHERELLI & PIAZZI, unpublished data). These marine plants are capable of reproducing both sexually and asexually: both modes of reproduction could add new biomass to the population and contribute to the population growth rate. However, in the Mediterranean, no production of gametes of both sexes has ever been observed and sexual reproduction is considered to have no influence on the spreading of *C. taxifolia* (POU *et al.*, 1993). Asexual reproduction is generally considered to be the most prevalent of the two modes of reproduction and it occurs by fragmentation and re-establishment. *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* like all *Caulerpa* species, reproduce vegetatively by fragmentation of their stolons.

Although the dispersal and re-establishment potential of vegetative fragments of these aquatic plants has not been evaluated experimentally, we believe it could be an important aspect of their population biology. Thalli of both algae are fragmented naturally and also by human activities. Wave action on shallow habitats and human impact caused by boat propellers and anchors in meadows of *Caulerpa* can be important sources of fragmentation and theoretically all fragments have the potential to re-establish because of the high capability for regenerating lacking portions (JACOBS, 1994). However, observation of fragments that are naturally and accidentally uprooted from the substratum has shown that they often consist of all the portions of the thallus (blade, stolon and rhizoid).

The aim of this study was to determine the potential for fragmentation to serve as a recruitment process for *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa*. We determined whether fragments of both algae could re-establish after one month throughout the seasons of one year of time in different areas of the sites.

MATERIAL AND METHODS

In this paper we present data obtained in two different experiments conducted at different times and sites, because of the fact that *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* did not occur at the same site and spreading of vegetative fragments of each alga was not done unless there was a natural meadow of it nearby. The experimental data for *C. taxifolia* were obtained in Galenzana Bay on the south coast of Elba Island (Tuscany, Italy) from October 1995 until September 1996, while the experiment for *C. racemosa* was carried out near Livorno (Tuscany, Italy) from September 1997 until August 1998.

For both experiments on several randomly chosen dates within each season, 20 complete fragments in portions were dispersed along *Posidonia oceanica* margin 3 m long (replicate in the analysis). Dispersal was carried out on areas not colonized by the

alga, approximately 30 m apart from the areas naturally colonized; it was assumed no natural dispersal of fragments had occurred to bias our results. Our aim was to assess the natural re-attachment of the fragments; hence no staples were used to anchor the fragments to the substratum that, conversely, were left free to float. Monitoring of the number of fragments re-established along the margins where dispersal had occurred was done after 1 month. The proportion of fragments established was then calculated.

For the *Caulerpa taxifolia* experiment on each dispersal date, fragments were spread in 3 replicates in each of the 2 areas randomly chosen at the two depths (3 m and 10 m). For the *Caulerpa racemosa* experiment at each dispersal date, fragments were spread in 3 replicates in each of the 2 areas randomly chosen; in this experimental design, the time of detachment was also included as another factor, and conversely to the previous experiment where fragment dispersal was done on the same day of collection, in this case on the dispersal day we spread fragments that had been detached for 10, 5 and 0 days.

In both experiments a four-way ANOVA of the percent number of blades established was performed: for *Caulerpa taxifolia* “depth” and “season” were treated as fixed factors while “area” and “time” were treated as random; for *Caulerpa racemosa* “detachment” and “season” were treated as fixed factors while “area” and “time” were treated as random. The depth, detachment and season were considered orthogonal, area nested in depth or in detachment (depending on the experiment) and date in season. SNK procedures were used to distinguish differences between individual means. Cochran’s test was used prior to the ANOVA to test the assumption of homogeneous variances.

RESULTS

For both *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa*, results have shown a high variability in the percent number of fragments re-established at small spatial scale (area) depending on time within each season (time). Basically fragments of the alga can re-attach to the substratum if the combination of local spatial and temporal conditions is favourable (area (D) x time (S) significant interaction, tab. I). A different probability of success in re-establishment of fragments has also been found also among seasons. For *C. taxifolia* SNK test has distinguished a rank of them and showed the highest probability of re-attachment in summer, good probability in spring and the lowest in winter (tab. I and fig. 1). Neither the factor “depth” nor the interaction term “depth x season” has been found to influence the re-establishment of vegetative fragments of *C. taxifolia*.

For *Caulerpa racemosa*, SNK test has distinguished the higher probability of re-establishment in summer compared to all other seasons, independently of the time of detachment (tab. II and fig. 2).

Table I. *Caulerpa taxifolia*. Results of ANOVA on the percent number of fragments re-established: D=depth, S=season, T=time, A=area. Cochran's test was not significant (C= 0.1214, p>0.05).

Source of variation	d.f.	MS	F	p
Depth =D	1	0.1381	0.57	0.5269
Area (D) =A	2	0.2396		
Season =S	3	40.2354	5.54	0.0245
Time (S) =T	8	7.3782		
D x S	3	0.5427	0.59	0.6435
A(D) x S	6	0.9194	1.40	0.2736
D x T(S)	8	0.9399	1.43	0.2566
A(D) x T(S)	16	0.6559	1.91	0.0282
Error	96	0.3431		

transformation: (x)^{1/2}

SNK test of the factor "Season": WIN=winter; SPR=spring; SUM=summer; AUT=autumn. SE=0.057, d.f.=2.
WIN<AUT<SPR<SUM

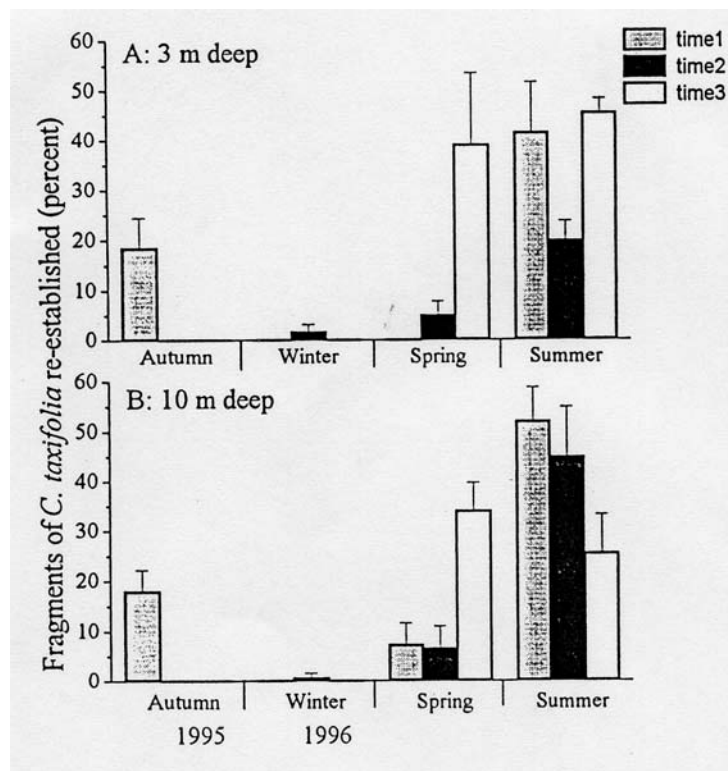


Figure 1. *Caulerpa taxifolia*. Temporal variation of mean percent number of fragments re-established at the two depths throughout the seasons.

Table II. *Caulerpa racemosa*. Results of ANOVA on the percent number of fragments re-established: D=detachment, S=season, T=time, A=area. Cochran's test was not significant (C= 0.1948, p>0.05).

Source of variation	d.f.	MS	F	p
Detachment =D	2	22.27		
Season =S	3	910.57	17.36	0.0093
Time (S) =T	4	52.44	0.64	0.5851
Area (T(S)) =A	8	81.25		
D x S	6	131.09	3.37	0.0579
D x T(S)	8	38.84	0.52	0.8219
D x A(T(S))	16	74.17	1.96	0.0370
Error	48	37.84		

SNK test of the factor "Season": WIN=winter; SPR=spring; SUM=summer; AUT=autumn. SE=1.48, d.f.=4.
WIN=AUT=SPR<SUM

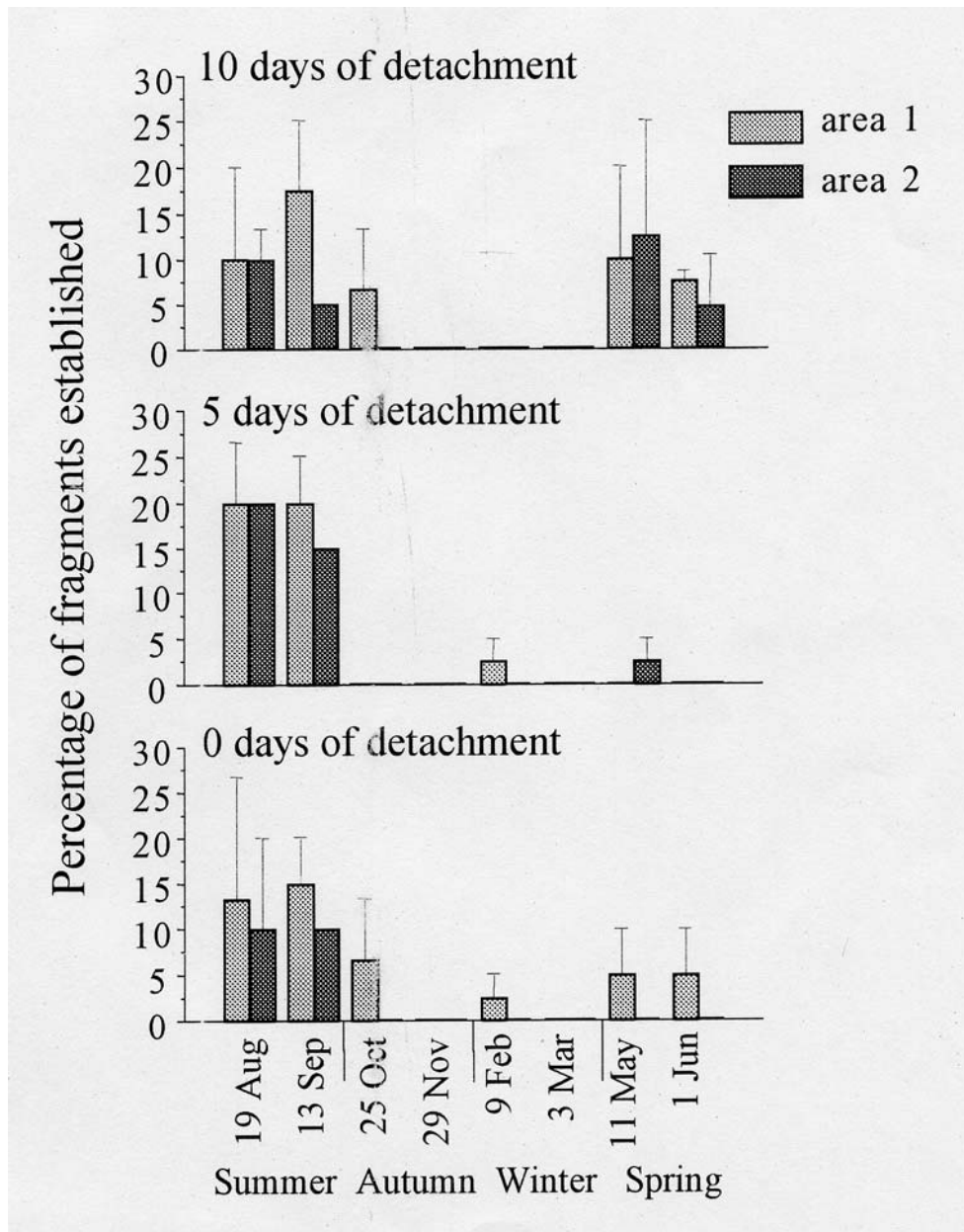


Figure 2. *Caulerpa racemosa*. Temporal variation of mean percent number of fragments re-established after 0, 5 and 10 days of detachment throughout the seasons.

DISCUSSION

Vegetative fragments of *Caulerpa taxifolia* are to be considered an important mode of asexual reproduction and contribute to a net gain in population spread especially during summer. Approximately 37 % of fragments re-established in summer, 15 % in spring, 6.5 % in autumn and only 1 % in winter.

Although results obtained for *Caulerpa racemosa* could not be analysed together with those of *C. taxifolia* (different times and sites of study), we stress the fact that for the

former the percentage of fragments reattached was lower and that no significant differences were found between autumn, winter and spring, for which the percentage re-established was lower than that of summer (15 %). The elapsed time after detachment tested for *C. racemosa* did not alter the probability of re-establishment of fragments since there were no differences in the success of fragments kept 0, 5 and 10 days detached from the substratum.

In both experiments, we did not alter the probability that a fragment would come in contact with the substratum long enough to establish. Morphological differences between fragments could also influence the probability of re-establishment of fragments. In this experiment we have tested the potential for re-establishment only for fragments of *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* in complete portions, but the potentiality for each portion (stolon, blade and rhizoid) still has to be investigated.

The season of maximum fragment production could differ from the optimum season for re-establishment. Unfortunately, size of fragment population was not assessed at the study site but it seemed consistent throughout the seasons (CECCHERELLI, personal observation); it is likely that the summer fragments are produced by human activity and the winter ones by natural disturbance.

The importance of fragment dispersal for the spread of *Caulerpa taxifolia* has already been stressed by some other authors. Observations made by BELSHER & MEINESZ (1995) using a submarine showed the presence of the alga mostly found as drifting fragments but also as fixed at depths of 45-100 m off the most densely invaded coast near Monaco. These authors suggest that the local downward spread of the tropical alga can be attributed to the detachment of fragments. SANT *et al.* (1996) have proved the high capability of fragments to survive for several days in dark and high humidity conditions: they suggest that boat transportation of fragments can represent an important mode of diffusion.

In conclusion, our data in combination with results obtained by BELSHER & MEINESZ (1996) and SANT *et al.* (1996) suggest that in order to prevent horizontal and vertical spread of *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* meadows or the establishment of new colonies, fragmentation of existing colonies resulting from human activity should be avoided.

Acknowledgements: This study was supported by European Community research program EU-DG XI-LIFE, and Ministero delle Risorse Agricole Alimentari e Forestali. We are sincerely grateful to Dr. F. BULLERI, Dr. F. RINDI, M. AUSTONI, D. CAMPO and L. SPINETTI for assistance in the field.

REFERENCES

BELSHER T., MEINESZ A., 1995. Deep-water dispersal of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean. *Aquat. Bot.* 51 : 163-169.

BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., VERLAQUE M., KNOEPFFLER-PEGUY M., 1992. The expansion of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Cryptogamie Algol.* 13 : 144-145.

CECCHERELLI G., CINELLI F., 1997. Short-term effects of nutrient enrichment of the sediment and interactions between the seagrass *Cymodocea nodosa* and the introduced green alga *Caulerpa taxifolia* in a Mediterranean bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 217 : 165-177.

JACOBS W.P., 1994. *Caulerpa*. *Scientific American* 271 (6) : 66-71.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction and invasion de l'algue *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol. Acta* 14 : 415-426.

MEINESZ A., VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. Appl. Phycol.* 5 : 141-147.

PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997. Expansion de l'algue tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) le long de la côte toscane (Italie). *Cryptogamie Algol.* 18 (4) : 343-350.

POU S., BALLESTEROS E., DELGADO O., GRAU A.M., RIERA F., WEITZMANN B., 1993. Sobre la presencia del alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (*Caulerpales*, Chlorophyta) en aguas costeras de Mallorca. *Boll. Soc. Hist. Nat. Balears* 36 : 83-90.

SANT N., DELGADO O., RODRÍGUEZ-PRIETO C., BALLESTEROS E., 1996. The spreading of the introduced seaweed *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Mediterranean sea : testing the boat transportation hypothesis. *Bot. Mar.* 39 : 427-430.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the north western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

RECENT STUDY OF *CAULERPA TAXIFOLIA* (CHLOROPHYTA) SETTLEMENT AT MALINSKA, CROATIA (NORTH ADRIATIC SEA, KRK ISLAND)

Nevenka ZAVODNIK, Ljiljana IVEŠA, Ana TRAVIZI & Andrej JAKLIN

"Ruđer Bošković" Institute, Center for Marine Research, 52210 Rovinj, Croatia

ABSTRACT

From October 1997 till January 1999, the *Caulerpa taxifolia* settlement was monitored monthly, outside the Malinska breakwater (Krk Island, Northern Adriatic Sea). The number of fronds, total fronds and stolon lengths, and algal standing crop were calculated per square metre. At present the alga covers an area of about 3000 m² and affects approximately 10000 m² of the surrounding sea bottom. It grows on silty-sand bottom at a 4-14 m depth. Between the *C. taxifolia* patches, the *Zostera noltii* and *Cymodocea nodosa* shoots spread sporadically. Overall, at the end of winter and during spring, *C. taxifolia* fronds began to necrose progressively and the algae partly disappeared. In summer months, green fronds and stolons renewed from old necrose algal fragments.

RÉSUMÉ

Les peuplements de *Caulerpa taxifolia* ont été suivis mensuellement d'octobre 1997 à janvier 1999, à l'extérieur du brise-lame de Malinska (île de Krk, Adriatique Nord). Le nombre de frondes, la longueur des frondes et des stolons, et la biomasse algale ont été mesurés par m². L'algue couvre 3000 m² et affecte environ 10000 m² du fond. Elle pousse sur un substrat sablo-vaseux, entre 4 et 14 m de profondeur. Quelques *Zostera noltii* et *Cymodocea nodosa* poussent entre les taches de *C. taxifolia*. De plus, à la fin de l'hiver et au printemps, les frondes de *C. taxifolia* se nécrosent progressivement et l'algue disparaît en partie. En été, des frondes vertes et des nouveaux stolons repoussent des anciens fragments nécrosés.

INTRODUCTION

In the Northern Adriatic Sea, the most northern invasion area of the tropical seaweed *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agard (Chlorophyta) was reported in Rijeka Bay at Malinska, *i.e.* at the western part of the Krk Island (fig. 1). The alga was first recorded in Malinska harbour early in 1995. In March 1995, the settlement was mapped (MEINESZ *et al.*, 1997; ŽULJEVIĆ *et al.*, 1998) and subjected to continuous scientific research. Occasionally, three small patches of *C. taxifolia* were noted in the surrounding area. The largest one was established outside the Malinska breakwater, and two smaller patches were near the Haludovo hotel complex, and in the vicinity of the town bathing area (ZAVODNIK *et al.*, 1998).

Research on the well formed and compact settlement in Malinska harbour was discontinued by February 1996 when the algal canopy was totally extirpated using a

suction pump method. The *C. taxifolia* settlement in the Haludovo area was also removed but the invading patches located at the breakwater and the bathing area were not treated (ZAVODNIK *et al.*, 1998).

In September 1996 the evident expansion of the breakwater *Caulerpa taxifolia* settlement was observed. The algal growth had intensified and the area covered expanded, although, a large scale compact canopy was not established. Overall, the settlement retained a patchy distribution pattern. Monthly surveys of *C. taxifolia* were initiated in October 1997. Special attention was paid to the morphometry of the algal fronds, its local distribution pattern, and variations in the benthic community. The present paper deals with some main results of the study carried from October 1997 till January 1999.

MATERIAL AND METHODS

Mapping of the *Caulerpa taxifolia* was carried out according to the standard cartographic procedure of VAUGELAS *et al.* (1999). Three localities were established: one near the breakwater (locality A), the second one in Malinska harbour (locality B) and the third in the bathing area (locality C) (fig. 1). Sediments consist of silty-sand with small amounts of shell litter.

Studies on the local distribution pattern and collections of *Caulerpa taxifolia* were undertaken only at locality A at 8 m depth. Seawater temperature and salinity were measured in the bottom layer.

Algae were collected manually by SCUBA divers using a qhadrat method. At each sampling three plots of 25 cm x 25 cm were sampled. In the laboratory, plant material was subjected to morphometric measurements, followed by density and biomass assessment. Algal wet and dry weights (48 h at 60 °C) were measured.

Morphometric features of *Caulerpa taxifolia* (frond length, width and area) for meiofauna analysis were measured in triplicate, each containing 20 fronds. Results are given as mean values for fronds per sample. Besides the basic information on epibionthic meiofaunal assemblages settled on *C. taxifolia*, the aim of this task was to collect evidence of seasonal variations within taxocoenes. Sampling and processing of epibionthic meiofauna has been previously described in detail (ZAVODNIK *et al.*, 1998). Divers provided visual census and manual sampling of the macrobenthos.

RESULTS AND DISCUSSION

Mapping in the breakwater area (locality A) shows that by December 1998 *Caulerpa taxifolia* had colonised an area of more than one hectare surface, and the bathing site (locality C) settlement measured about 2500 m². In the harbour area (locality B) a few

C. taxifolia had reappeared, despite the successful eradication performed in spring 1996 (fig.1).

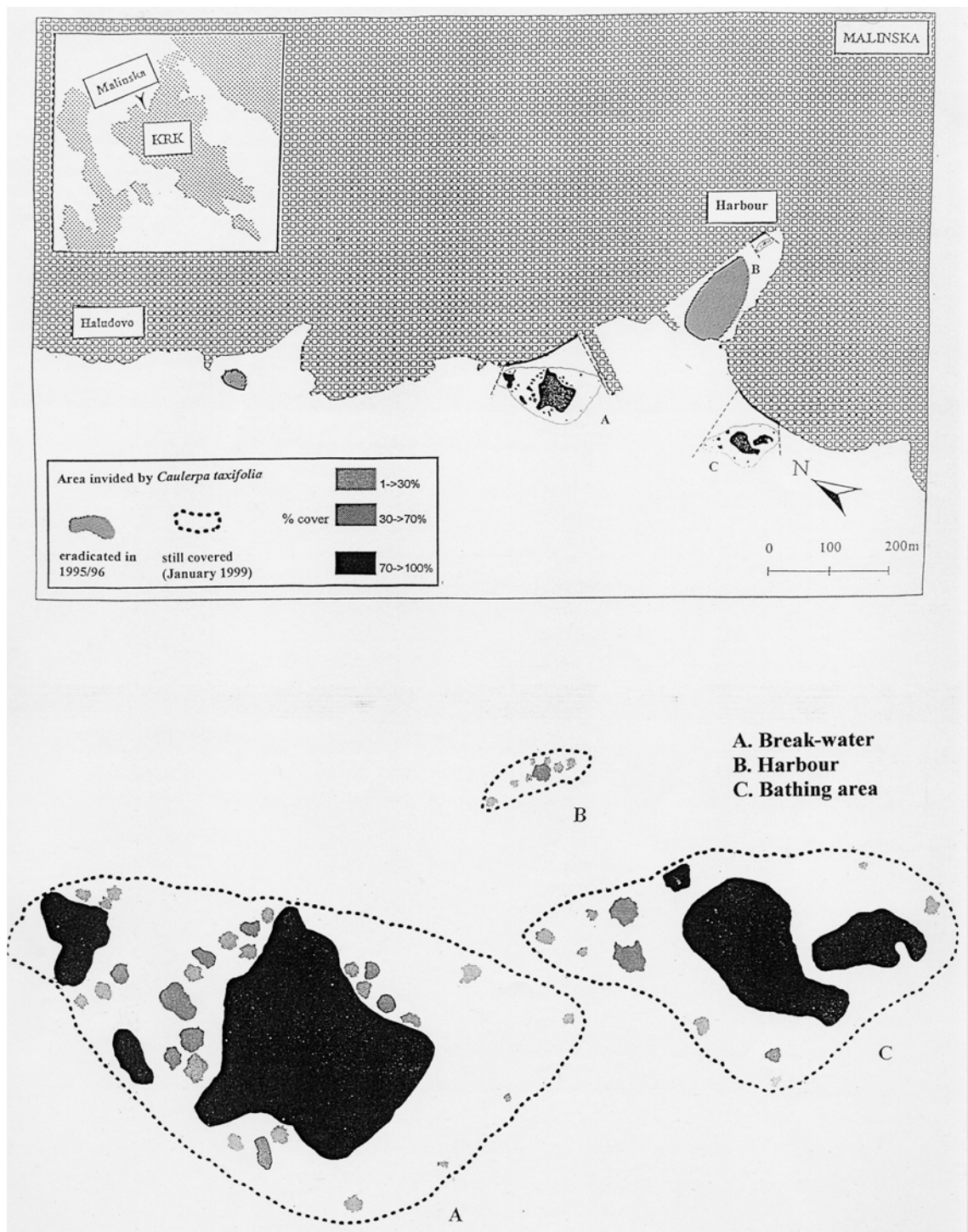


Figure 1. Cartography of *Caulerpa taxifolia* area at Malinska (Krk Island).

During the study period, in the breakwater area seawater temperatures ranged from 11 °C in winter, to 21 °C in summer (fig. 2). Salinity variations were minor, from 37 to 38 ‰. However, the nearly latent phase of vegetative cycle was noted in May. By then the biomass of collected algae was the lowest (fig. 3), the fronds perished from necrosis and virtually disappeared, and only stolons covered with epiphytes remained. Obviously, the lowest algal vitality was not strictly related to variations of the environmental parameters measured.

The algal vegetation was renewed from stolons, necrosed fronds and pinnules usually in June when the sea water temperature increased to about 19 °C. Newly grown fronds frequently ramificated (fig. 4). It seemed that every piece of thalli previously disseminated became a new light green coloured *Caulerpa taxifolia*, free from epiphytic organisms. Shortly, all old necroses fronds disappeared. Frond ramification continued throughout the algal active vegetation period but reached its maximum in November. By then the number of ramifications of primary fronds was as high as five to seven "branches" and length of the pinnules varied from 2-15 mm.

During the recent study period, at the breakwater locality (A), at 8 m depth, minimum density of 1120 fronds.m⁻² was recorded in April 1998. Maximum frond densities were recorded in December: 3104 in 1997, and 2661 in 1998 (fig. 3). In May 1998 only broken algal thalli were found and measurements of frond length were not possible. These data differ considerably from results noted in the Malinska harbour settlement in 1996 before its eradication. By then, in a dense algal canopy the maximum of 6 280 fronds.m⁻² was noted in September, and the minimum established in February was just 3 899 fronds.m⁻² (ZAVODNIK *et al.*, 1998). This difference is probably due to the different age of the settlements studied. On the basis of the suggestions of MEINESZ *et al.* (1993) it seems that the *C. taxifolia* settlement at Malinska breakwater had been established about three years ago, before the present study started.

In October 1998, near the breakwater, the total stolon length of only 72 m.m⁻² was measured, bearing 2496 fronds and 2896 pillars of rhizoids. Stolon width was 1 to 4 mm. In the course of the study period, the most frequent frond length class was that of 10-15 cm. Exceptions were in June, when only short new frond shoots were recorded, and in the period from November 1998 till January 1999 when the 15-20 cm length class was dominant (fig. 5). It should be noted that in this winter period also the longest *C. taxifolia* fronds of 30-40 cm length were measured. However, in the Malinska area, at all sites where algal associations were not dense, fronds exceeding 30 cm were collected only occasionally. MEINESZ & HESSE (1991) noted that *C. taxifolia* fronds ranged from 5 to 10 cm in length at 5 m depth. At 9 m depth 62 cm long fronds were recorded. These results are not comparable with our data from the Malinska harbour and breakwater area.

Considerable seasonal changes in *C. taxifolia* standing crop were noted. At 8 m depth biomass ranged from 6 g dw in May to 325 g dw.m⁻² in November 1998 (fig. 3). Percentages of dry matter varied from 10 to 14 % of algal fresh weight. Unfortunately, deviations in comparison to previous results obtained in the Malinska harbour settlement (ZAVODNIK *et al.*, 1998) could not be explained satisfactorily so far.

Epiphytic flora and fauna were recorded only on old «branches» in the winter-spring period. They were quite similar to those recorded previously (ZAVODNIK *et al.*, 1998). Numerous seaweeds were associated with *C. taxifolia* settlements were associated such as *Gracillaria armata* (C.Ag.), *Rytiphloea tinctoria* (Clem.) C.Ag., *Laurencia obtusa* (Huds.) Lamour., *Hypnea musciformis* (Wulf.), *Dictyota dichotoma* var. *intricata* (C.Ag.) Grev., *Dictyota linearis* (C.Ag.) Grev., *Cladophora prolifera* (Roth) Kütz. and *Ulva laetevirens* Aresch. At the most seaweeds were recorded seasonally. The seagrass *Zostera noltii* Hornem. was sparsely distributed. Only few shoots of *Cymodocea nodosa* (Ucr.) Asch. were noted. Benthic fauna was characterized by *Verongia aerophoba* (Schmidt), *Bittium reticulatum* (Da Costa), *Hexaplex trunculus* (Linnaeus), *Aplysia punctata* (Cuvier), *Octopus vulgaris* (Cuvier), larvae of decapod crustaceans, *Holothuria helleri* (Marenzeller), juvenile ophiuroids and fish *Sarpa salpa* (Linnaeus), *Hippocampus ramulosus* (Leach), and others.

The study of seasonal dynamics of epibiotic meiofauna of *Caulerpa taxifolia* was initiated in June 1998, *i.e.* at the beginning of the active vegetation period. Preliminary results based on the analysis of biological material collected in summer, pointed to a progressive increase of total meiofauna densities (fig.6), suggesting its dependence on frond length and frond area increases. With regard to taxonomic composition and abundance of constitutive taxocoenes the present results are fully consistent with data presented in preliminary research (ZAVODNIK *et al.*, 1998). Variations noted in subsequent samplings indicated a clear seasonality of epibiotic meiofauna. Results will be presented in a separate paper after the annual cycle study is finished.

CONCLUSIONS

The spread of the green alga *Caulerpa taxifolia* in the area of Malinska breakwater occurred on silty-sand bottom occupied poorly by *Zostera noltii*, a few *Cymodocea nodosa* shoots and, seasonally, by numerous associated seaweeds. Considering the vegetation and zoobenthos in the study area, the eventual reduction in the biota diversity could not be estimated.

On the basis of the recently covered and affected surface area, it seems that the settlement of *Caulerpa taxifolia* near the Malinska breakwater was colonized probably in 1995.

Acknowledgments: We are greatly obliged to Mrs. Rosella SANKOVIC for laboratory assistance and to anonymous referees for precious suggestions and improvement of the manuscript. This study was supported by the Ministry of Science and Technology of the Republic of Croatia, Project No. 00981301.

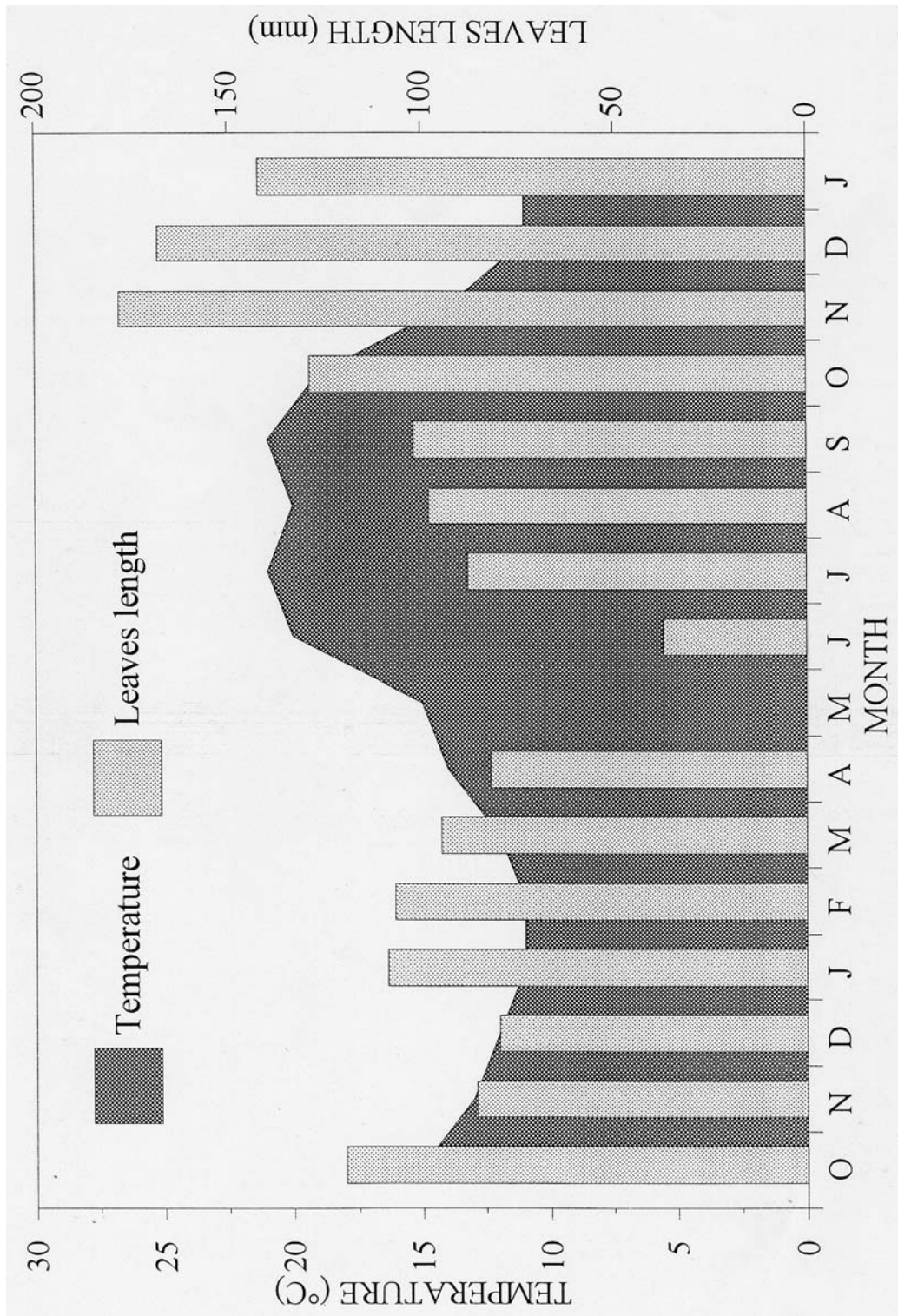


Figure 2. Monthly variation in seawater temperature and *Caulerpa taxifolia* frond length.

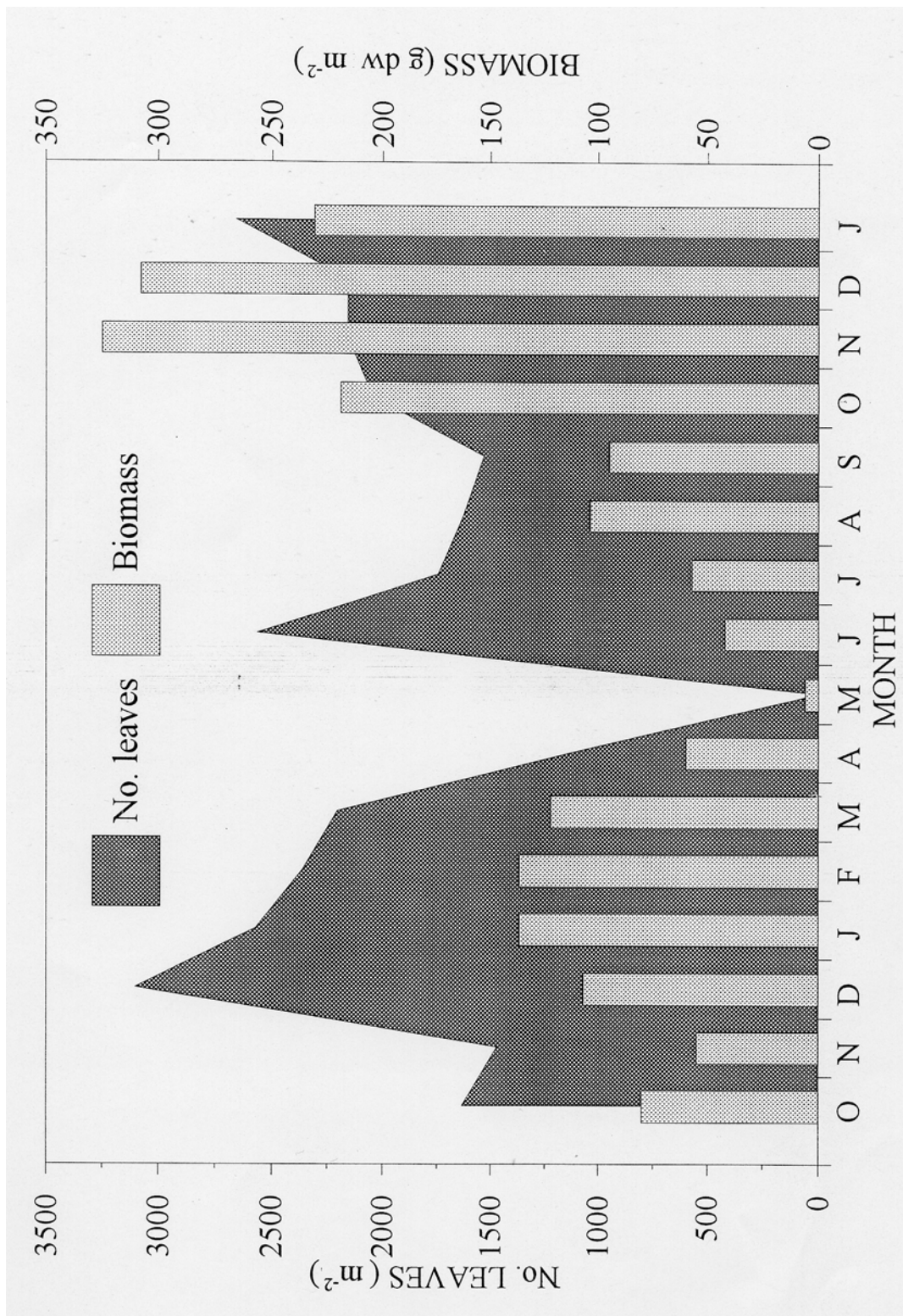


Figure 3. Monthly variation in number of fronds and biomass of *Caulerpa taxifolia*.

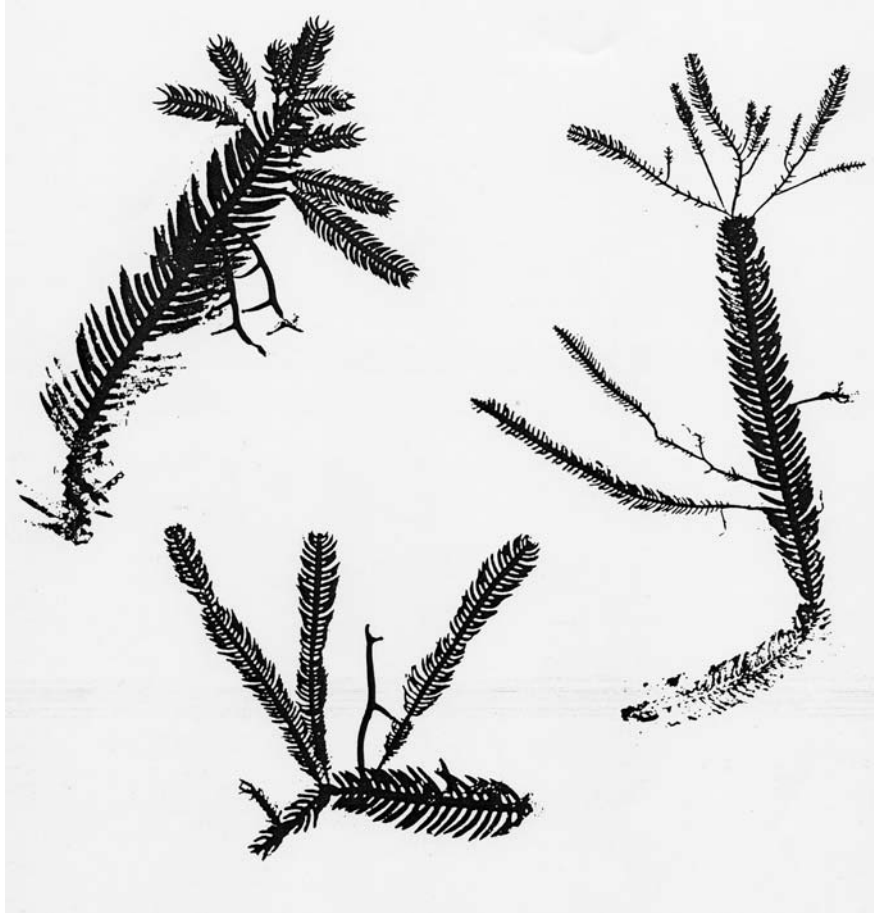


Figure 4. *Caulerpa taxifolia* growth from necrosed fronds fragments and pinnules. Parts necrosed are noted by N.

REFERENCES

MEINESZ A., HESSE, B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta* 14 : 415-426.

MEINESZ A., VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. appl. Phycol.* 5 : 141-147.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée : Situation au 31 décembre 1996. *Laboratoire Environnement Marin Littoral* publ., Université de Nice-Sophia Antipolis : 190 pp.

VAUGELAS J. de, MEINESZ A., ANTOLIĆ B., BALLESTEROS E., BELSHER T., CINELLI F., COTTALORDA J.M., FRADA ORESTANO C., JAKLIN A., MORUCCI C., SANDULLI R., ŠPAN A., TRIPALDI G., VAN KLAVEREN P., ZAVODNIK N., ŽULJEVIĆ A., 1999. Standardization of map representation for the expansion of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea. *Oceanologica Acta* 22 (1) : 1-10.

ZAVODNIK N., TRAVIZI A., JAKLIN A., LABURA Z., 1998. *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the North Adriatic Sea at Malinska (Krk Island, Croatia). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*.

Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., Marseille, France : 175-184.

ŽULJEVIĆ A., ZAVODNIK N., ANTOLIĆ B., JAKLIN A., ŠPAN A., 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes croates de la Méditerranée : situation au 31 décembre 1997. Suivi de invasion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée: situation au 31.12.1997. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiaverini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML-UNSA, France : 211-224.

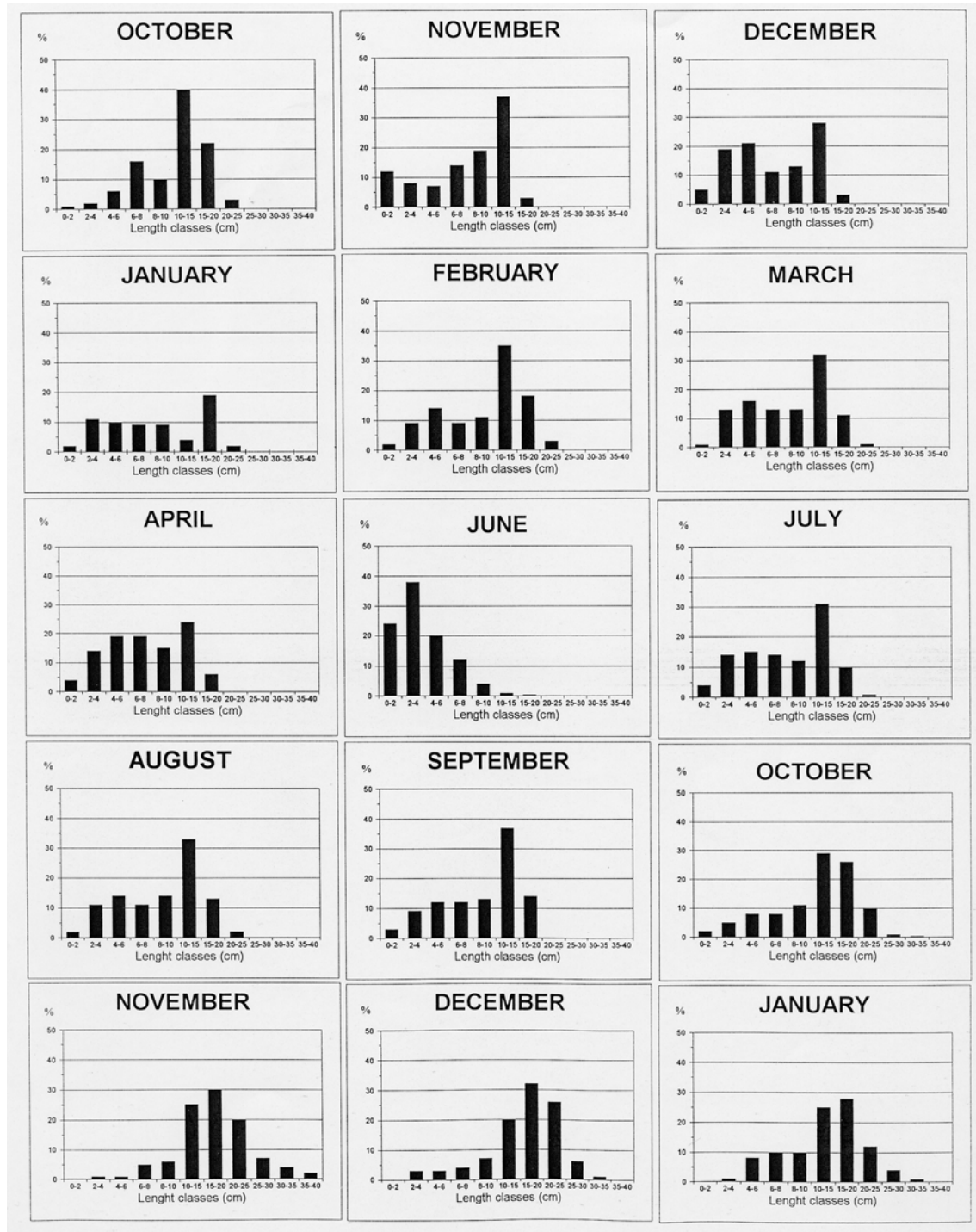


Figure 5. Frond length classes of *Caulerpa taxifolia* during the investigated period.

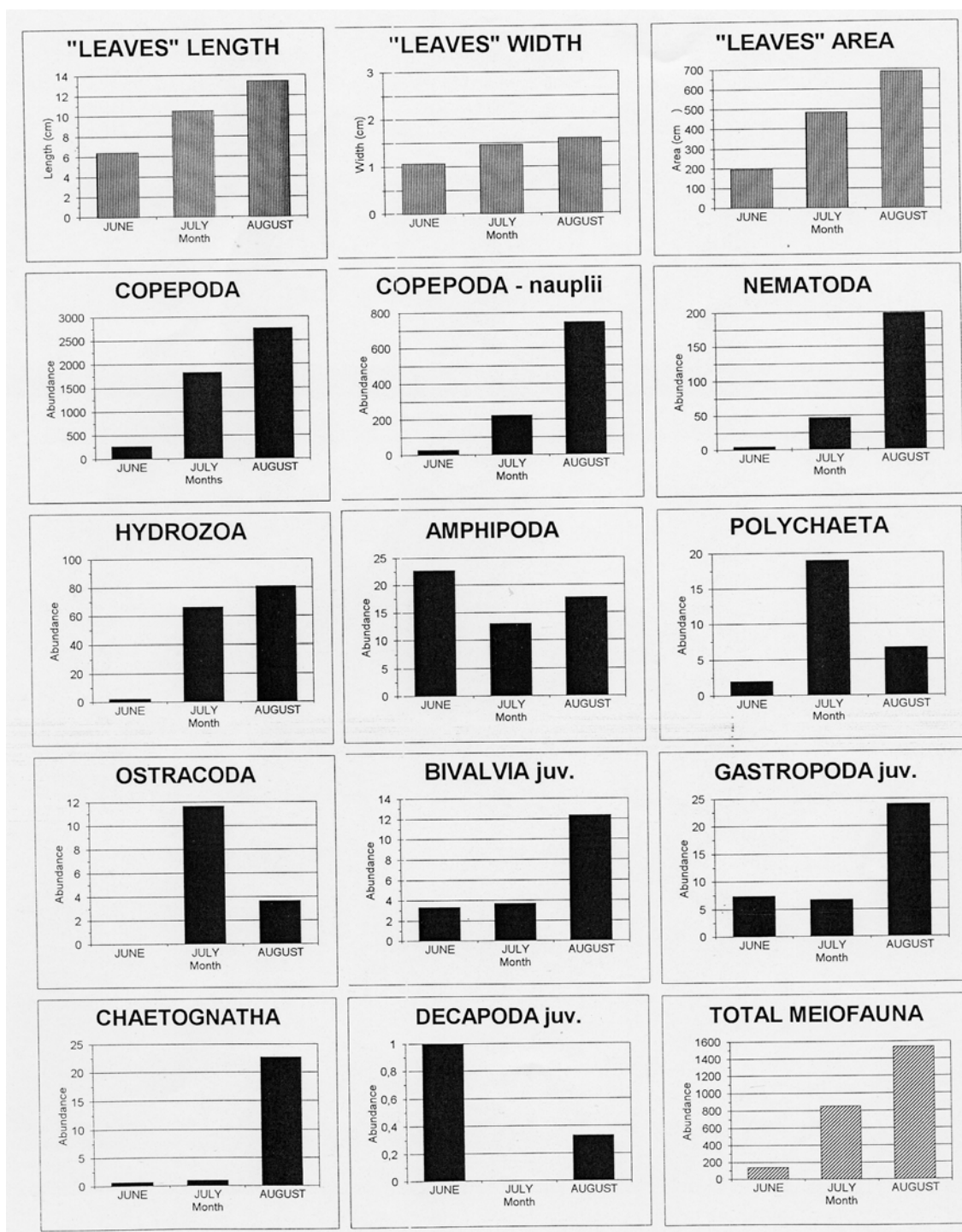


Figure 6. Variations in morphometric features of *Caulerpa taxifolia* in summer 1998, and meiofauna abundance.

POLAR METABOLITES OF THE GREEN SEAWEED *CAULERPA TAXIFOLIA* THAT IS INVADING THE MEDITERRANEAN SEA, AND A COMPARISON WITH TROPICAL STRAINS FROM BIOACTIVE TERPENOIDS

Ines MANCINI¹, Graziano GUELLA¹, Andrea DEFANT¹, M. Luz CANDENAS²,
Cristina P. ARMESTO², Daniela DEPENTORI¹ & Francesco PIETRA³

¹ *Laboratorio di Chimica Bioorganica, Università di Trento, 38050 Povo-Trento, Italy*

² *Instituto de Investigaciones Químicas, CSIC, Américo Vespucio s/n, Isla de La Cartuja, 41092 Sevilla, Spain*

³ *Centro Interdisciplinare 'Beniamino Segre', Accademia Nazionale dei Lincei, via della Lungara 10, 00165 Roma, Italy*

Key words : *Caulerpa taxifolia*, glyco glycerolipids, phenylpyruvic acid methyl esters, stable enols, enzymic hydrolysis, myometrial strips

ABSTRACT

The ethanolic extract of the green seaweed *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh from the Baia di Calenzana, Elba Island, gave medium-polarity glyco glycerolipids and high-polarity phenylpyruvic acid methyl esters in the enol form. The first comprise, in low yields, the new (2*R*)-1-*O*-[(7*Z*,10*Z*,13*Z*)-hexadeca-7,10,13-trienoyl]-2-*O*-linolenoyl-3-*O*- β -D-galactopyranosyl-*sn*-glycerol (**2**) and the analogs **1** and **3**. The second include abundant 4-hydroxy- and 3,4-dihydroxyphenylpyruvic acid methyl esters in the enol (*Z*) forms **7a** and **8a**, accompanied by minor (*E*) stereoisomers **7b** and **8b**. Chemical manipulations enabled us to also obtain the latter two compounds in sufficient amounts to establish the stereochemistry. Neither these products, nor the main sesquiterpenoids from *C. taxifolia*, showed cholinergic or histaminergic activity, contrary to suggestions in recent literature. It should not be forgotten that quick, very sensitive analysis by ionspray tandem mass spectrometry revealed the same profile of bioactive sesquiterpenoids for Mediterranean and tropical strains of *C. taxifolia*, but at higher concentration in the Mediterranean strain. This implies conservative functional genes encoding for the enzymes involved in the biosynthesis of these terpenoids.

RÉSUMÉ

L'extrait éthanolique de l'algue *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh de la baie di Calenzana, île d'Elba, donne des glyco glycérolipides de polarité moyenne et des acides phenylpyruviques methyl esters à forte polarité dans leur forme énol. Le premier comprend, dans les produits bas, le nouveau (2*R*)-1-*O*-[(7*Z*,10*Z*,13*Z*)-hexadeca-7,10,13-trienoyl]-2-*O*-linolenoyl-3-*O*- β -D-galactopyranosyl-*sn*-glycérol (**2**) et ses analogues **1** et **3**. Le second inclus, en abondance, l'acide 4-hydroxy- et 3,4-dihydroxyphenylpyruvique methyl esters dans sa forme énol (*Z*) **7a** et **8a**, accompagné en petite quantité par les stéréo-isomères (*E*) **7b** et **8b**. Les manipulations chimiques ont également permis d'obtenir deux composés en quantité suffisante pour établir leur stéréochimie. Ni ces produits, ni les principaux sesquiterpènes de *C. taxifolia*, ont une activité cholinergique ou histaminergique, contrairement à leur récente implication dans la littérature. Il ne faut pas omettre que des analyses rapides, très sensibles, par ionspray couplées à de la spectrométrie de masse donne le même profil de sesquiterpènes bio-actifs pour les souches de

C. taxifolia méditerranéenne et tropicale, mais en plus grande concentration dans la souche méditerranéenne. Ceci implique la conservation de gènes codant pour les enzymes impliqués dans la synthèse de ces terpènes.

RIASSUNTO

L'estratto etanolico dell'alga verde *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh della Baia di Calenzana nell'isola d'Elba diede glicoglicerolipidi di media polarità e fenilpiruvati polari in forma enolica. I primi comprendono, in bassa resa, il nuovo (2*R*)-1-*O* -[(7*Z*,10*Z*,13*Z*)-esadeca-7,10,13-trienoil]-2-*O*-linolenoil-3-*O*- β -D-galactopiranosil-*sn*-glicerolo (**2**) e gli analoghi **1** e **3**. I secondi comprendono abbondanti metil esteri degli acidi 4-idrossi-e 3,4-diidrossifenilpiruvico nelle forme enoliche (*Z*) **7a** e **8a**, accompagnati dagli stereoisomeri (*E*) **7b** e **8b**, meno abbondanti. Manipolazioni chimiche hanno permesso di ottenere anche i due ultimi composti in quantità sufficiente per stabilire la stereochimica. Né questi prodotti, né i principali sesquiterpenoidi della *C. taxifolia* mostrarono attività colinergica o istaminergica, contrariamente a quanto implicato in letteratura recente. È da ricordare che un'analisi rapida e molto sensibile MS-MS ha rivelato lo stesso profilo di terpenoidi bioattivi per ceppi mediterranei e tropicali di *C. taxifolia*, il che implica geni funzionali conservativi nella codifica per gli enzimi implicati nella biosintesi di questi terpenoidi.

INTRODUCTION

The position of the Caulerpales - to which *Caulerpa taxifolia* (Vahl) Agardh belongs - among the few toxic seaweeds has been recently reviewed (PIETRA, 1997). Molecular work on Mediterranean and tropical strains of this seaweed follows three lines. The first one deals with the variability of genetic, nonfunctional material. The second one is based on certain enzymes of the primary metabolism. The third approach is centered on unusual secondary metabolites; this first started with the examination by classical phytochemical methods of *C. taxifolia* from Cap Martin, on the Côte d'Azur (France). This allowed isolation of a series of new, highly bioactive sesquiterpenoids and truncated terpenoids besides the main sesquiterpenoid, caulerpenyne, which had already been found in *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux (GUERRIERO *et al.*, 1992, 1993).

Determining these metabolites in mixture at low concentration has been a long standing problem in the development of ecological studies of *C. taxifolia* in the Mediterranean. A satisfactory solution - at sensitivity and speed surpassing biological methods - has only recently been obtained in our laboratories, and is reviewed here.

Isolating and identifying polar metabolites is also a difficult task. The first results in this field are reported here for *C. taxifolia* from the Baia di Calenzana, in Elba island (Italy).

MATERIAL AND METHODS

Sampling and work up

Caulerpa taxifolia was collected (856 M) in large amounts in the Baia di Calenzana, Elba island (Italy), at shallow depth at the end of July 1997. Freed as much as possible from epiphytes, the alga was immediately immersed in 95 % EtOH and cold stored. A few days later, a portion (= ca. 4 kg fresh weight) of this seaweed was homogenized, filtered and evaporated to give 17.8 g of residue that was subjected to silica-gel flash-chromatography, first under gradient elution *n*-hexane/AcOEt, AcOEt/MEOH and then with MeOH, for a total of 34 fractions of 400 mL each. Fr. 26 (0.3 g) was subjected to RP-18 FC with MeOH/H₂O gradient elution, for a total of 8 fractions of 60 mL each. The residue of fr. 6 (70 mg) was subjected to SiO₂ preparative TLC with AcOEt/MeOH 9:1 to give a mixture of **1-3**. The glycolipids were obtained in pure form by RP18 HPLC with MeOH/H₂O 97:3, column 25 x 1 cm, flux 5 mL/min, UV monitoring 8 220 nm (**1**, *t_R* = 9.5 min, 17.6 mg; **2**, *t_R* = 10.5 min, 6.6 mg; and **3**, *t_R* = 11.3 min, 9.2 mg). The enols, which are more polar substances, were obtained from the residue of fr. 1 (130 mg) by RP18 HPLC with MeOH/H₂O 1:9, UV 8 254 nm (**7b-8b** 1:2, *t_R* = 2.9 min, 3.8 mg; **8a** *t_R* = 7.5 min, 80.0 mg; and **7a** *t_R* = 9.8 min, 39.5 mg). *C. taxifolia* was also collected (835 M) in the southwestern lagoon of New Caledonia near Nouméa at a depth of 10 m at the end of September 1996 and was immediately freeze-dried and stored at -30 °C for later examination by tandem mass spectrometry.

Chemical methodologies

NMR: Varian XL 300 spectrometer, operating under inverse detection for 2D experiments. UV: Perkin-Elmer Lambda-3 spectrophotometer. Polarimetric data: JASCO-DIP-181 polarimeter. MS: Kratos MS80 spectrometer with a Vacumetrics-DIP gun for FAB spectra and a home-built acquisition system for low-and high-resolution experiments. MS-MS experiments (RAFFAELLI *et al.*, 1997) were carried out with a PE SCIEX API III Plus mass spectrometer from SCIEX, Thornhill, Ontario.

Biological assays

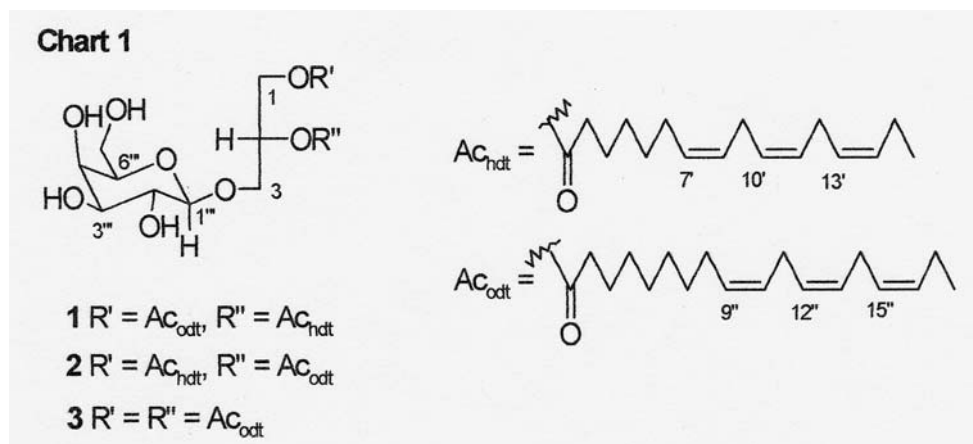
Preparation of uterine strips was carried out according to the literature (MAGRANER *et al.*, 1998) with few modifications, as follows. Uterine horns from virgin female Wistar rats in the oestrous phase were taken and cleaned, and longitudinal strips of smooth muscle (8-10 mm in length and 1-2 mm in width) were mounted in tissue baths containing 4 mL of Krebs solution (NaCl 118; KCl 5.6; CaCl₂ 1.9; MgSO₄ 0.95; NaH₂PO₄ 1.0; NaHCO₃ 25 and glucose 11 mM). These were suspended under an initial tension of 0.5 g, flushed with 95 % O₂/5 % CO₂ and held at 37 °C. The response was mechanically recorded by means of a Grass FT-03 isometric force-displacement transducer linked to a LETICA amplifier and an ABB GOERZ SE 130 multichannel recorder. At the beginning of the experiment, and after a 45 min equilibration period, the preparation was made to contract two or more times by giving a maximally effective concentration of ACh (10⁻³ M) at 30 min intervals, until constant response. The last response was taken as an internal standard for all experiments. Uterine strips were equilibrated for a further 60 min before adding cumulative concentrations of either a *C. taxifolia* product (10⁻⁹-10⁻⁵ M) or its vehicle (time-matched paired control strips). In parallel, the effects of *C. taxifolia* products were measured on uterine contractions induced by either a high K⁺ depolarising solution (60 mM K⁺, prepared by equimolar

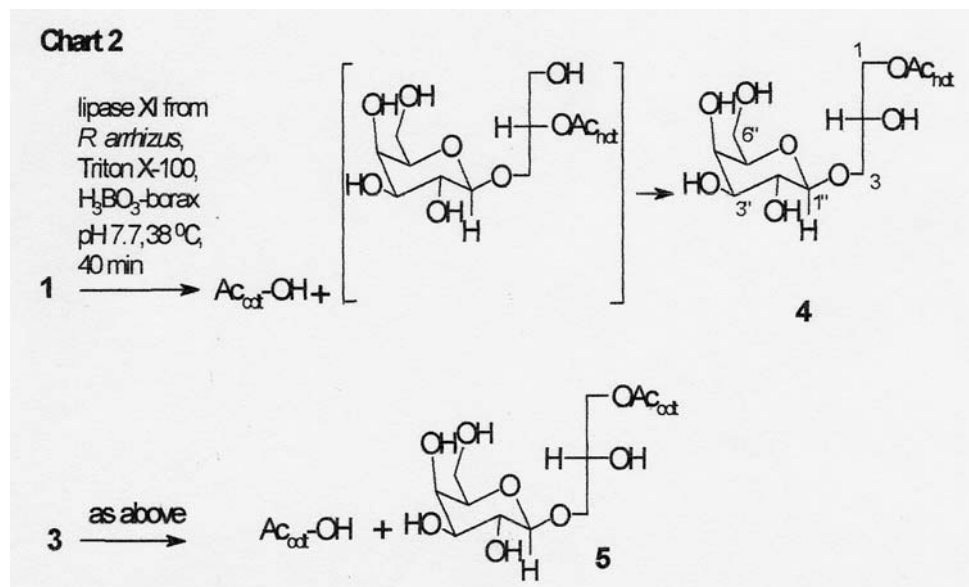
substitution of KCl for NaCl in the physiological solution) or the receptor agonist oxytocin (0.2 nM). When the tonic contraction induced by KCl was sustained, or the rhythmic contractions produced by oxytocin reached constant amplitude, a test product (1 nM-10 μ M) or its vehicle (time-matched control tissues) were added to the bath cumulatively at 15 min intervals. Experiments were also carried out on isolated rings from rat aorta (as described above for the uterus, with the sole difference of replacing KCl with ACh as the spasmogen internal standard). In all cases, only one product was tested per tissue; the values are expressed as mean \pm s.e.m. for 5 experiments in 5 different animals. Contractile responses were measured as peak increase in force and are given in mg/mg tissue (wet wt.) or as a percentage of the peak increase in force produced by ACh (10^{-3} M). Relaxation responses are given as percentage inhibition of the maximum tension induced by the spasmogen (KCl or oxytocin) before the addition of the products.

RESULTS AND DISCUSSION

Structure of the glycolipids

Glycolipids **1-3** in chart 1 (MANCINI *et al.*, 1998) were structurally elucidated by a combination of enzymatic and chemical transformations, examining the natural compounds and the products by both FAB MS and NMR spectroscopy. This gave the composition $C_{43}H_{70}O_{10}$ for both **1** and **2**, and $C_{45}H_{74}O_{10}$ for **3**. Enzymatic hydrolysis (lipase XI from *Rhizopus arrhizus*) of **1** gave **4** with a (7Z,10Z,13Z)-hexadeca-7,10,13-trienoyl (Ac_{hdt}) chain at the primary OH, besides linolenic acid (Ac_{odt} -OH) (chart 2), while no reaction occurred under these conditions without the enzyme. Similarly, **3** gave **5** and linolenic acid (Ac_{odt} -OH) (chart 2). Enzymatic hydrolysis at the primary position to give the elusive intermediate within the graphs, followed by Ac_{hdt} migration (chart 2), is in accordance with the results in chart 3 of slow methanolysis at the secondary position for compound **2** on long storage in CD_3OD .





The $60^\circ \text{ } ^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY (fig. 1) and the $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ COSY (fig. 2) for compound 1 fully support these structural assignments. These correlation charts can be compared with those recently reported for a compound deemed to possess “an aminoacidic skeleton in an alicyclic chain and polyenic conjugated bonds” (DELLA PIETÀ *et al.*, 1996). The latter plots were cut at too high a threshold value to allow detection of all details, but they match our more complete plots, so that the structural attribution by DELLA PIETÀ *et al.*, 1996 has to be revised accordingly.

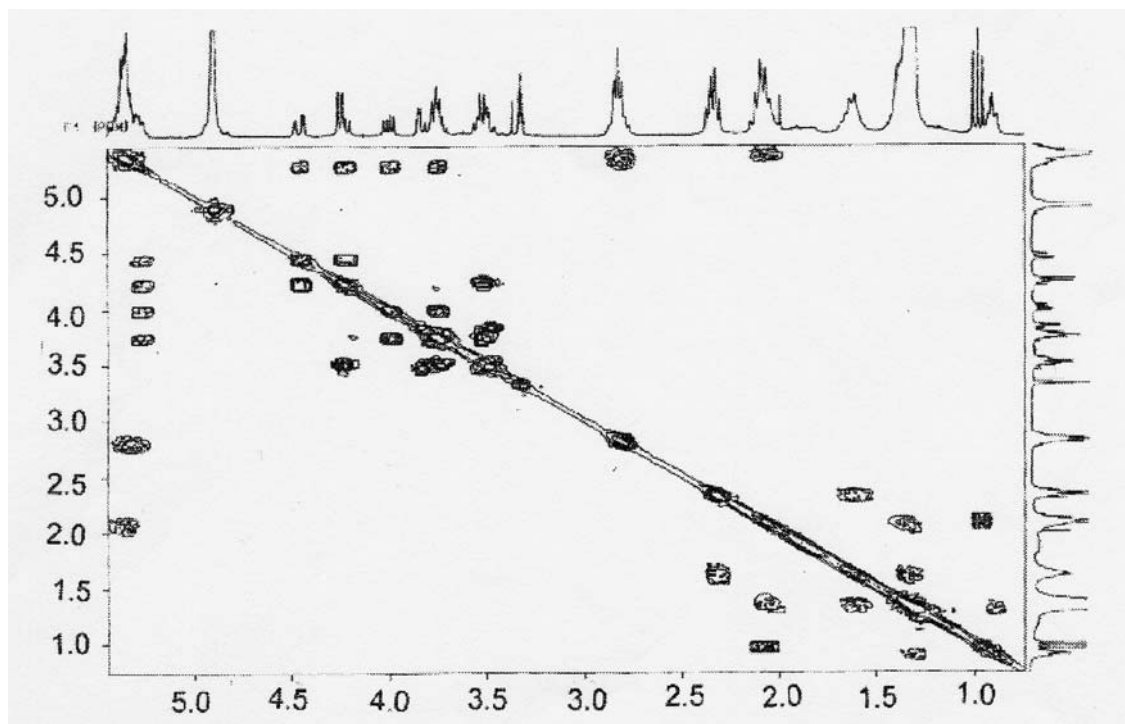


Figure 1. $60^\circ \text{ } ^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY plot for compound 1 in CD_3OD .

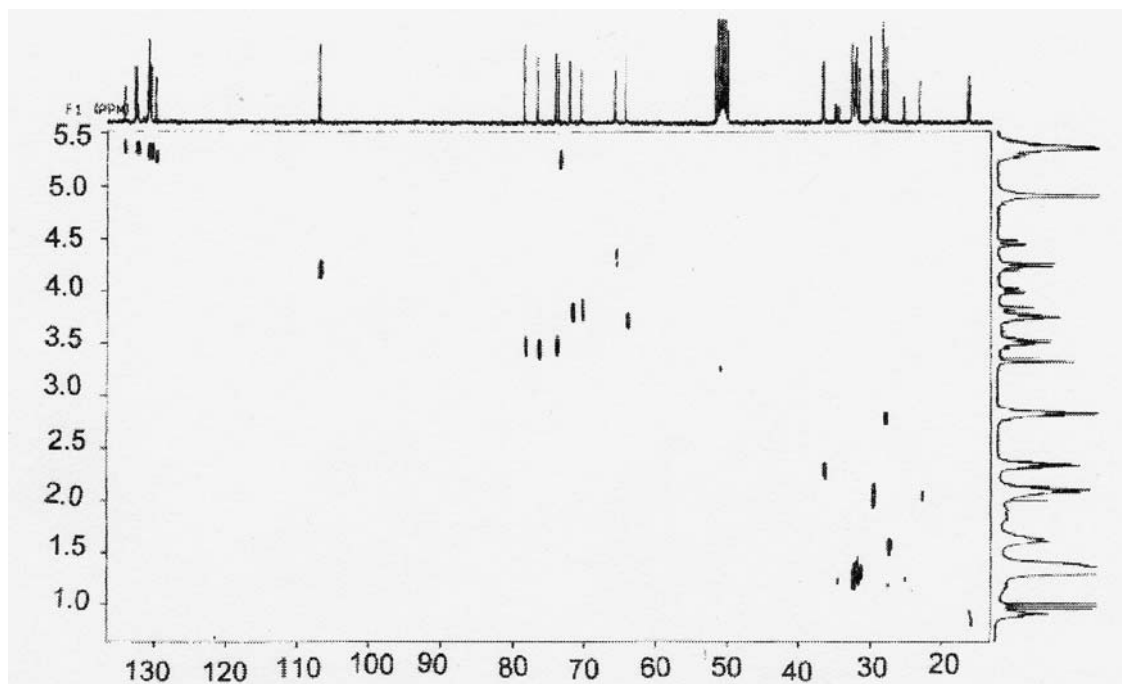
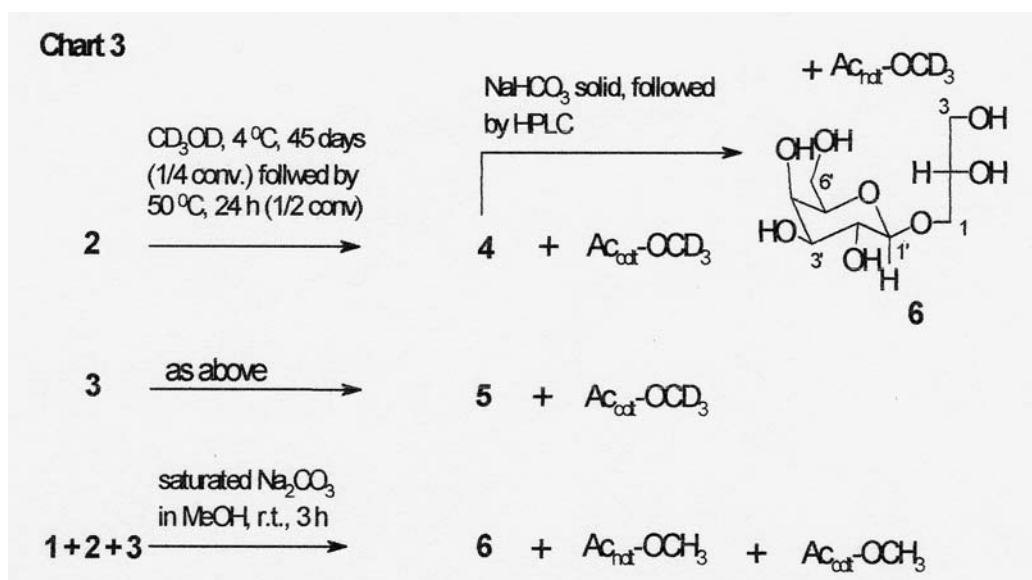


Figure 2. $^1\text{H},^{13}\text{C}$ COSY for compound **1** in CD_3OD .

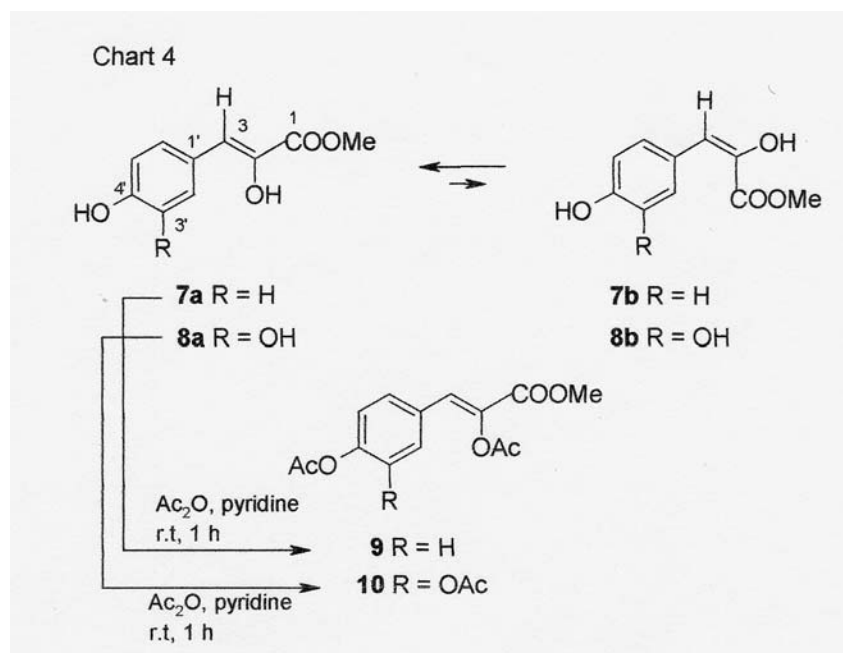
The absolute configuration was assigned, as shown in chart 3, by complete, rapid Na_2CO_3 -catalyzed hydrolysis of a mixture of **1-3** to give compound **6** of known absolute configuration (MURIKAMI *et al.*, 1995), besides the acyl portions as methyl esters.



Structure of the pyruvic acid esters

That the pyruvic acid esters are in enolic form was suggested by their UV absorption (typical of the enol form of α -keto esters, δ_{\max} 299 nm), and the NMR spectrum. This revealed a mixture of predominant (*Z*) forms **7a** and **8a** along with minor (*E*) stereoisomers **7b** and **8b**.

With the aim of assigning the stereochemistry from NMR heterocouplings, we also secured the minor form **8b** in sufficient amounts. This was achieved by UV irradiation of the natural mixture of pyruvic acid methyl esters **8a/8b** with 350 nm light, followed by HPLC separation, getting pure **8a** and **8b**. This allowed us to record H3/C1 ^1H , ^{13}C NMR heterocoupling constants of 3.7 and 9.2 Hz for **8a** and **8b**, respectively, by which the configurations were assigned as in Chart 4 from the known criterion that $^3J(\text{H}, \text{C}_{\text{trans}})$ is larger than $^3J(\text{H}, \text{C}_{\text{cis}})$. The acetyl derivatives **9** and **10** were also obtained under standard conditions (chart 4).



Biological assays

Neither **1** nor the mixture **1-3** at natural relative ratios of abundances revealed any significant effect on preparations of rat-isolated uterus under resting conditions. ACh performed as expected, by inducing contractions that were abolished by atropine. Thus, these compounds lack any cholinergic activity (MANCINI *et al.*, 1998).

Moreover, neither **1** nor the mixture **1-3** proved able to relax contractions induced by KCl or oxitocin; this shows lack of interaction with (a) mechanisms of Ca^{2+} influx via L-type, voltage-operated Ca^{2+} channels, (b) activation of receptor-operated Ca^{2+} channels, (c) Ca^{2+} release from intracellular stores, and (d) Ca^{2+} -independent processes (MANCINI *et al.*, 1998).

Glycoglycerolipid **1** also proved ineffective on the isolated rat aorta (where histamine induced a H1-mediated contraction). We also assayed on these preparations both

caulerpenyne (the major sesquiterpenoid of *Caulerpa taxifolia*) and oxytoxin 1 (likely product of hydrolysis of caulerpenyne). Only the latter had a non-negligible effect, by partially relaxing the KCl-induced response, albeit only at the highest concentrations assayed (MANCINI *et al.*, 1998). Anyway, it should be appreciated that both caulerpenyne and oxytoxin 1 are much less polar compounds than glycolipids **1-3** and thus could hardly have been contaminants in the 1996 work of DELLA PIETÀ *et al.*, unless a very rough purification process was used.

CONCLUSIONS

To put things in a phylogenetic / taxonomic perspective, it should be recalled that glycolipids **1** (MORIMITO *et al.*, 1995) and **2** (MORIMITO *et al.*, 1995; MURIKAMI *et al.*, 1995) are also products of freshwater Cyanobacteria. Similar compounds were also found in raphidophycean algae (KOBAYASHI *et al.*, 1992). It is interesting that the polyunsaturated fatty acids in these glycolipids are of the T3 type (*i.e.* of the useful type for the human diet, although toxic - in the free form - toward the raphidophycean alga, KOBAYASHI *et al.*, 1992). Similar compounds, with the same absolute configuration as compound **2**, were also isolated from *Monostroma nitidum* (Ulvophyta, Ulotrichales) (sn-2 C16:4, sn-1 mainly C18:3 and partly C16:4) (ARAO *et al.*, 1989) and vascular plants (*Medicago sativa*, where they contribute to stabilize cell walls, KOBAYASHI *et al.*, 1992).

The phylogenetic relatedness of vascular plants to green seaweeds may explain the similarity of metabolites described above. In the same vein, the enols described here can be compared to the phenylpropanoids of vascular plants. But the tiny amounts of glycolipids in *Caulerpa taxifolia*, compared to the huge amounts of similar compounds in vascular plants, suggest a different role in the alga.

Neither glycolipids **1-3**, nor pyruvic acid methyl esters **7-8** and the sesquiterpenoids caulerpenyne and oxytoxin 1, can be responsible for the cholinergic and/or histaminergic activities reported by DELLA PIETÀ *et al.* (1996). Since, as discussed above, DELLA PIETÀ's NMR data indicate structure **1**, the reported biological activities (DELLA PIETÀ *et al.*, 1996) find no explanation. The possibility that the algal sample from Imperia, used in DELLA PIETÀ's work, may have contained different metabolites from the Baia di Calenzana sample used here, is not supported by comparisons with either a tropical strain (RAFFAELLI *et al.*, 1997) or a Côte d'Azur strain (GUERRIERO *et al.*, 1996). In both cases the same terpenoid profile was found. Incidentally, this should not be overlooked when tracing the evolutionary history of this seaweed.

The comparison of *Caulerpa taxifolia* from Elba Island with a tropical strain was made through modern MS-MS techniques, with an efficient ionspray source. This allowed us to quickly determine the minor terpenoids in the presence of major terpenoids without any chromatographic separation and at absolute picogram level (RAFFAELLI *et al.*, 1997). This allows detection of these metabolites or their degradation products in other organisms from trace amounts of material. Previous HPLC-UV analytical techniques

(VALLS *et al.*, 1994) were time consuming, of sensitivity not better than in the original isolation work (GUERRIERO *et al.*, 1992), and limited to the major terpenoid, caulerpenyne, without any chance of determining the minor terpenoids. The UV absorption of the latter, at natural abundance ratios, is submerged by that of caulerpenyne, while tails render inefficient any HPLC analysis.

Acknowledgments: We thank A. STERNI for running the mass spectra. Work financially supported by MURST (Progetti di Interesse Nazionale), CNR, the Spanish Ministry of Education and Science (grant PB 92-0487), DGXI LIFE 1996-98, and the Regione Toscana (3^o Programma di Ricerca Finalizzata Sanitaria).

REFERENCES

- ARAO T., YAMADA M., 1989. Positional distribution of fatty acids in galactolipids of algae. *Phytochemistry* 28 : 805-810.
- DELLA PIETÀ F., BILIA A.R., SCATIZZI R., BRESCHI M.C., CINELLI F., MORELLI I., 1996. Attività di un estratto di *Caulerpa taxifolia* sulla muscolatura liscia dell'ileo. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Universitat de Barcelona Publ., Spain : 337-341.
- GUERRIERO A., MEINESZ A., D'AMBROSIO M., PIETRA F., 1992. Isolation of toxic and potentially toxic sesqui- and monoterpenes from the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of Cap Martin and Monaco. *Helv. Chim. Acta* 75 : 689-695.
- GUERRIERO A., MARCHETTI F., D'AMBROSIO M., SENESI S., DINI F., PIETRA F., 1993. New ecotoxicologically and biogenetically relevant terpenes of the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which is invading the Mediterranean. *Helv. Chim. Acta* 76 : 855-864.
- GUERRIERO A., DEPENTORI D., D'AMBROSIO M., DURANTE M., DINI F., GERONI C., PIETRA F., 1996. Ecologically harmful though photodegradable terpenoids from the green seaweed *Caulerpa taxifolia* adapted to the Mediterranean Sea. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Universitat de Barcelona Publ., Spain : 233-246.
- KOBAYASHI K., HAYASHI K., KAWAZOE K., KITAGAWA I., 1992. Marine natural products. XXIX. *Heterosigma*-glycolipids I, II, III, and IV, four diacylglyceroglycolipids possessing T3-polyunsaturated fatty acid residues, from raphidophycean dinoflagellate *Heterosigma akashiwo*. *Chem. Pharm. Bull.* 40 : 1404-1410.
- MAGRANER J., PINTO F.M., ANSELMINI E., HERNANDEZ M., PEREZ R., MARTÍN J.D., ADVENIER C., CANDENAS M.L., 1998. Characterization of tachykinin receptors in the uterus of the oestrogen-primed rat. *Br. J. Pharmacol.* 123 : 259-268.
- MANCINI I., GUELLA G., DEFANT A., CANDENAS M.L., ARMESTO C.P., DEPENTORI D., PIETRA F., 1998. Polar metabolites of the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which is spreading in the Mediterranean Sea : glycolipids and stable enols. *Helv. Chim. Acta* 81 : 1681-1691.
- MORIMITO T., NAGATSU A., MURAKAMI N., SAKAKIBARA J., TOKUDA H., NISHINO H., IWASHIMA A., 1995. Anti-tumour-promoting glyceroglycolipids from the green alga, *Chlorella vulgaris*. *Phytochemistry* 40 : 1433-1437.

MURIKAMI A., NAKAMURA Y., KOSHIMIZU K., OHIGASHI H., 1995. Glyceroglycolipids from *Citrus hystrix*, a traditional herb in Thailand, potently inhibit the tumor-promoting activity of 12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-*O*-acetate in mouse skin. *J. Agric. Food Chem.* 43 : 2779-2783.

PIETRA F., 1997. Biochimie des métabolites secondaires de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée, par comparaison avec les autres espèces de *Caulerpa*. *Dynamique d'espèces marines invasives: application à l'expansion de Caulerpa taxifolia en Méditerranée*. Institut de France, Académie des Sciences, Lavoisier TEC DOC : 255-268.

RAFFAELLI, A., PUCCI, S., PIETRA, F., 1997. Ionspray tandem mass spectrometry for sensitive, rapid determination of minor toxic sesquiterpenoids in the presence of major analogues of the foreign green seaweed *Caulerpa taxifolia* which is invading the northwestern Mediterranean. *Anal. Commun.* 34 : 179-182.

VALLS R., ARTAUD J., AMADE P., VINCENTE N., PIOVETTI L., 1994. Determination of caulerpenyne, a toxin from the green alga *Caulerpa taxifolia* (Caulerpaceae). *J. Chromatogr. A* 663 : 114-118.

ANTIPROLIFERATIVE POTENCY OF CAULERPENYNE IS RELATED TO ITS INTERFERENCE WITH METAPHASIC PROCESSES

Catherine PESCI-BARDON¹, Danielle PESANDO¹, Philippe HUITOREL²,
Philippe AMADE¹, Laleh JONCHERAY¹ & Jean-Pierre GIRARD¹

¹ Laboratoire de Physiologie et Toxicologie Environnementales (EA 2138), Université de Nice-Sophia Antipolis, Faculté des Sciences, Parc Valrose, 06108 Nice, Cedex 02, France

² Groupe de Mobilité Cellulaire, Unité de Biologie Cellulaire Marine, URA 671 CNRS-Université P. et M. Curie, Observatoire Océanologique, Station Zoologique, 06230 Villefranche/mer, France.

Key words: caulerpenyne, sea urchin, mitosis, MAP-kinase.

ABSTRACT

We examined the precise effects of caulerpenyne (Cyn) on the proliferating stage of eggs of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Cellular events occurring between fertilization and metaphase were not affected by Cyn. We previously showed that Cyn whose effect is dose-dependent, stops the first cleavage in the same manner whether added before or during metaphase. Analyses of mitotic events by immuno-localization of the cytoskeleton and the chromatin show that 45 μ M Cyn blocks mitosis in a metaphase like stage with a reduced mitotic spindle of microtubules and an abnormal progressive alignment of mitotic chromosomes in the equatorial plate. The effect of this toxin was studied on two main kinase pathways which would control mitosis in sea urchin eggs, one leading to MPF (Maturating Promoting Factor) activation, the other to MAP (Mitogen Activated Protein Kinases) stimulation. *In vivo* experiments show that Cyn did not modify MPF process but reduced the MAP kinase peak occurring at the time of metaphase. In contrast, when tested *in vitro*, Cyn did not change the activity of endogenous kinases of egg extract obtained at metaphase stage. Similar results were obtained with PD 98059 (40 μ M) a synthetic inhibitor of MAP-kinase pathway, suggesting that Cyn alters an activation step preceding the phosphorylation cascade necessary to the metaphasic and the mitotic processes thus leading to a metaphase-like arrest of sea urchin embryos.

RÉSUMÉ

Nous avons examiné les effets précis de la caulerpényne (Cyn) sur les stades de prolifération de l'œuf d'oursin *Paracentrotus lividus*. Nous avons montré précédemment que la Cyn, dont l'effet est dose-dépendant, bloque de la même manière le premier clivage qu'elle soit ajoutée avant ou pendant la métaphase. Ainsi les événements cellulaires précédant la métaphase ne sont pas affectés par cette toxine. L'analyse des événements mitotiques par immunolocalisation du cytosquelette et de la chromatine montre que 45 μ M de Cyn bloque la mitose à un stade de pseudo-métaphase. L'effet de cette toxine a été étudié sur les principales kinases impliquées dans l'entrée en mitose. Des expériences réalisées *in vivo* montrent que la Cyn n'affecte pas l'activité histone kinase reliée à l'activation du MPF (Maturating Promoting Factor) mais par contre qu'elle utilise comme cible principale les MAP kinases (Mitogen Activated Protein Kinases) qui sont activées au moment de la métaphase. Cependant la Cyn n'affecte pas la réaction de phosphorylation du substrat lorsqu'elle est mise en contact *in vitro* avec les

enzymes. Des effets comparables ont été obtenus avec le PD98059 (40 μ M) inhibiteur synthétique de la cascade des MAP-kinases. Ceci suggère que la Cyn affecte une étape de phosphorylation-déphosphorylation située en amont de l'activation d'une MAP kinase nécessaire au déroulement de la métaphase et de la mitose ce qui explique l'arrêt en pseudo-métaphase des embryons d'oursin.

INTRODUCTION

In previous papers (PESANDO *et al.*, 1998a, 1998b), we established that caulerpenyne (Cyn), a natural sesquiterpene synthesized by a green alga (PAUL & FENICAL, 1986), arrested sea urchin egg division in a metaphase-like stage, with apparent defects in chromosome alignment. No cellular effect was detected prior to metaphase. Furthermore, arrest of egg division by Cyn was accompanied by the inhibition of phosphorylation of a number of proteins but not of H1-kinase activation at the time of mitosis.

Research over the past few years has demonstrated the central role played by protein phosphorylation-dephosphorylation in the regulation of the mitotic cycle. Mitosis events are under the control of (MAPK) cascade in several cell types (SHIBUYA *et al.*, 1992; FERREL *et al.*, 1991; VERLHAC *et al.*, 1994). The role of MAPK activation during the mitotic cycle of sea urchin eggs and particularly at the time of metaphase was shown to be essential. Moreover MBP phosphorylation resulted mainly from MAPK activity and very rarely from the histone H1 (H1K) phosphorylation process (CHIRI *et al.*, 1998; PHILIPOVA & WHITAKER, 1998). Thus, considering that Cyn altered protein phosphorylation but not H1-kinase activation, Cyn may inhibit other upstream kinase activation at the time of metaphase.

To address this question, we have compared the effect of Cyn on phosphorylation of MBP and histone H1 with those induced by well characterized specific inhibitors of these protein kinases. PD98059 is a flavone compound (ALESSI *et al.*, 1995) inhibiting cell proliferation (COOLIGAN *et al.*, 1997). This inhibitor prevents with good specificity the activation of one of the MAPK, the MEK1, but not H1K (COHEN, 1997; SADLER & RUDERMAN, 1998). Butyrolactone 1, another inhibitor of the cell cycle progression in WI38 human cultured cells, prevents phosphorylation of the cell cycle-regulating proteins as H1 histone (SOMEYA *et al.*, 1994; KITAGAWA *et al.*, 1992, 1994) but scarcely affects MAPK activation (MEIJER & KIM, 1997).

In the present study, we show that PD 98059, a well known MEK1 inhibitor, arrests the mitotic cycle at metaphase in a way very similar to Cyn, whereas butyrolactone 1, a well known inhibitor of H1-kinase, prevents entry in mitosis. Biochemical analysis confirms that butyrolactone 1 inhibits the H1-kinase activation normally observed *in vivo* in sea urchin eggs at metaphase and *in vitro* in a mitotic extract, which is consistent with its cellular effects. Furthermore, we show that both Cyn and PD 98059 inhibit MBP-kinase activation *in vivo*. However, none of these molecules inhibit the MBP-kinase activity directly *in vitro*, suggesting an inhibitory action in the corresponding upstream pathway.

MATERIAL AND METHODS

Biological material and chemicals

The Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*, collected in the bay of Villefranche-sur-Mer (France), provided the eggs and sperm cells. Experiments were carried out at room temperature with a 4 % (v/v) egg suspension containing 20 000 eggs / ml in filtered (0.22 µm) natural seawater (NSW). Fertilization was obtained by adding 10 µl of sperm, previously diluted 1:50 in NSW, per ml of egg suspension (BIYITI *et al.*, 1990).

Caulerpenyne was extracted from the fresh alga *Caulerpa taxifolia* according to AMADE & LEMÉE (1998) and kept as a stock solution (12 mM) in ethanol. The highest concentration of solvent used, 0.5 % ethanol, did not affect fertilization or early development. PD 98059 was purchased from Biolabs and butyrolactone from ICN Biochemical.

Determination of sea urchin egg division rate

The rate of division was determined as described by BIYITI *et al.* (1990). Chemicals (Cyn, PD 98059 and butyrolactone 1) were added 1 min after fertilization. At time intervals after fertilization, the number of cleaving embryos (treated or control) was determined under light microscopy and the results expressed as the percentage of cleaving treated eggs relative to controls. Mitosis progression was also followed under light microscopy.

Kinase activity assays

In vivo experiments

The histone H1-kinase and myelin basic protein kinase (MBPK) activities were measured as described by CHIRI *et al.* (1998). A 4 % egg suspension was fertilized and treated or not with Cyn (45 µM) or PD 98059 (40 µM) or butyrolactone 1 (50 µM) added 1 min post fertilization. Aliquots (500 µl) of the above egg suspensions were taken at different times after fertilization and centrifuged. The supernatant was removed by aspiration and 200 µl of homogenization buffer (MEIJER & PONDAVEN, 1988) was added to the egg pellet. The tube was immediately frozen and stored in liquid nitrogen until use.

In a final volume of 25 µl the kinase assay contained the following: 5 µl of sonicated egg homogenates, 500 nM cAMP-dependent Protein Kinase Inhibitor (PKI), (SCOTT *et al.*, 1986), 1 mg / ml histone H1 (Sigma type III-S) or 1 mg / ml MBP (Sigma) as substrates, 305 µM (g 32-P) ATP (ICN about 2.2 mCi / ml) and buffer C (MEIJER & PONDAVEN, 1988). Kinase reactions were started by addition of radioactive ATP usually for 20 min at 30 °C. Assays were terminated by spotting 20 µl aliquots onto 2 x 2.5 cm pieces of Whatman P81 phosphocellulose paper and after 20 s the filters were washed six times during 2 hours in a solution of 1 % phosphoric acid. The wet filters were transferred into 4 ml plastic scintillation vials and accumulated radioactivity was counted. Protein concentration was measured (BRADFORD, 1976). The kinase activity was expressed in cpm transferred from (g 32-P) ATP incorporated / histone

H1 or MBP/10 min / mg protein. Blank kinase activity (*ie* extracts incubated in the absence of histone H1 or MBP) were subtracted from each value.

In vitro experiments

In order to test for the sensitivity of egg extract kinases to the drugs, 100 µl of extract containing endogenous kinases from a pool of eggs arrested during metaphase was incubated with 45 µM Cyn, 40 µM PD98059, 50 µM butyrolactone 1 or ethanol-DMSO for 20 min at 16 °C. These extracts were then assayed for H1 or MBP-kinase activities as described above.

Cytochemistry

Mitotic progression and cleavage were followed directly on live eggs under light microscopy. Aliquots of sea urchin egg cultures were treated as previously described (PESANDO *et al.*, 1998). Cytolocalisation of chromatin was done with Hoechst 33258 (HUITOREL & KIRSCHNER, 1988) and microtubules were visualized by specific anti-tubulin antibodies (KILMARTIN *et al.*, 1982; GAGNON *et al.*, 1994; HUITOREL *et al.*, 1996). The observations were made with a Zeiss Axiophot, using a 40 X Plan-Neofluar objective. Pictures were taken on Kodak T MAX 100 Film and processed with the Kodak T MAX developer for this sensitivity.

RESULTS

We have previously shown that Cyn inhibits the mitotic cycle of sea urchin eggs and reduces the phosphorylation of a number of proteins without affecting the H1-kinase activation observed during mitosis. Therefore, we have tested whether Cyn affected MAP-kinase activation, an activity previously shown to control entry into mitosis (CHIRI *et al.*, 1998), together with H1-kinase, in sea urchin eggs.

1- Kinetics of H1-kinase and MBP-kinase activities during the mitotic cycle of sea urchin eggs

We first studied the time course of changes in H1-kinase and MBP-kinase activities in soluble extracts of sea urchin eggs during the first division cycle. Under our culture conditions, both activities showed a transient increase starting around 40 min after fertilization, which corresponds to entry into mitosis, then reaching a maximum around 50 min after fertilization and decreasing just before the beginning of the first cleavage at 60 min (fig. 1). MBP-kinase activity increased and peaked slightly but reproducibly after H1-kinase activation.

2- Effect of inhibitors on kinase activations *in vivo*

We then looked at the effect of Cyn on those kinase activities *in vivo*, in comparison with well characterized inhibitors and with an untreated control. Fertilized eggs were incubated with Cyn (45 µM) PD 98059 (40 µM) and butyrolactone 1 (50 µM) at concentrations inhibiting the first division (fig. 2A). MBP-kinase and H1-kinase activities were measured in soluble egg extracts prepared at different time points from 35 to 70 min post fertilization. Cyn and PD98059 reduced the peak of activation of MBP-kinase observed at time of metaphase in the control (fig. 2B) but H1-kinase

activation was not affected (fig. 2C). Butyrolactone 1 produced an opposite effect, namely the inhibition of the H1-kinase activation, without affecting significantly the MBP-kinase activation. From those experiments, we can conclude that Cyn produces a kinase inhibition pattern similar to the one observed in the presence of PD 98059, a well characterized MAP-kinase inhibitor.

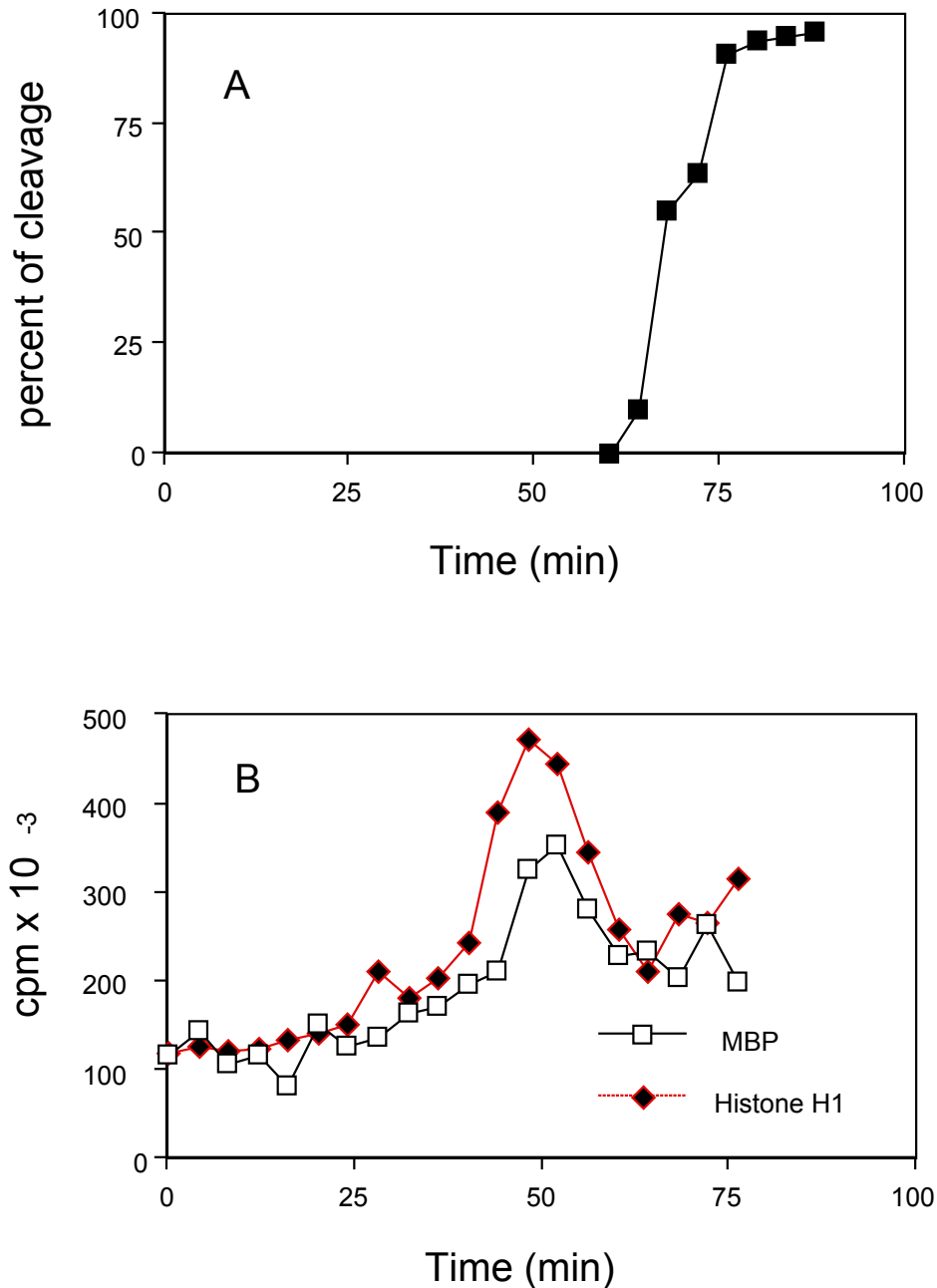


Figure 1. Time course of Histone H1 and MBP phosphorylations during the first cell cycle of sea urchin eggs: (A) kinetics of cleavage, fertilization occurring at time zero; (B) H1 and MBP kinase activities were measured on egg extracts taken at different times after fertilization. H1 and MBP kinase activities were measured on the same batch of eggs by three independent experiments, the most representative being shown.

3- Effect of inhibitors on the mitotic cycle

Fertilized sea urchin eggs, treated or not with the inhibitors described above, were observed under light microscopy. Cyn (45 μM) and PD 98059 (40 μM) treated eggs behaved quite similarly, showing signs of entry into mitosis such as disappearance of the nucleus and mitotic spindle formation, but did not cleave when control eggs did around 65 min (fig. 3). Butyrolactone 1 (50 μM) treated eggs did not show such signs of entry into mitosis, but showed a centering of the zygote nucleus, suggesting that the eggs were arrested after the fusion of pronuclei had occurred.

Immunolocalisation using anti-tubulin antibodies to visualize the microtubule network and Hoechst dye to visualize chromatin, revealed the cellular effects of the inhibitors. Both Cyn and PD 98059, MBP-kinase inhibitors, allowed the centering and fusion of pronuclei, the formation of a bipolar mitotic spindle, the condensation of chromatin, the dispersal of the nuclear envelope, and the alignment of chromosomes in the equatorial plate (fig. 4). However, the mitotic spindle was usually small and not centered in the egg and chromosome alignment was not perfect, a few of them lagging out of the metaphase plate. Usually those eggs did not enter anaphase and did not cleave, when control untreated eggs did. Butyrolactone 1, an H1-kinase inhibitor, induced a completely different pattern of inhibition. Whereas the spermaster formed and developed allowing the centering and the fusion of pronuclei, chromatin did not condense and the nuclear envelope did not show signs of dispersal. The aster did not show any kind of evolution towards a bipolar array of microtubules. No further evolution of the mitotic cycle was observed.

Those experiments showed that Cyn and PD 98059 produced very similar effects on the mitotic cycle. However, whereas Cyn arrested all the egg population when added early after fertilization at inhibiting concentration, a portion of the population of PD 98059 treated eggs progressed in the mitotic cycle, entering the cleavage stage.

4- Effect of inhibitors on kinase activity *in vitro*

After we established that Cyn and PD 98059 produce very similar effects *in vivo*, both on kinase activities controlling the cell cycle and on mitotic cellular events, we compared the effects of those inhibitors on kinase activities *in vivo* and *in vitro* to determine whether Cyn inhibited the MBP-kinase activity directly, or through an upstream event.

We measured the MAP-kinase and H1-kinase activity in extracts made from eggs arrested by Cyn (45 μM), PD 98059 (40 μM) or butyrolactone 1 (50 μM), and compared them to activity from control eggs extracted at the time of metaphase. As shown in figure 5A, treatment of cells with the drugs added 1 min post fertilization to the egg suspension, resulted in a decrease of MBP-kinase activity in the presence of Cyn or PD 98059 and to a lesser extent butyrolactone 1 (fig. 5A) whereas H1-kinase activity was only affected by butyrolactone 1 under the same conditions (fig. 5B).

Cyn and PD 98059, used at the same concentration as in the *in vivo* experiments and added to mitotic extracts made from the same population of untreated eggs, where the enzymes are already activated, did not directly inhibit the endogenous H1 or MBP-kinase activities *in vitro*. When assayed in the same conditions, as expected,

butyrolactone 1 inhibited the H1-kinase activity and to a lesser extent the MBP-kinase activity (fig. 5C and 5D). Therefore, butyrolactone 1 can be used as a positive control in this experiment, whereas Cyn and PD 98509 did not inhibit MBP-kinase activity directly.

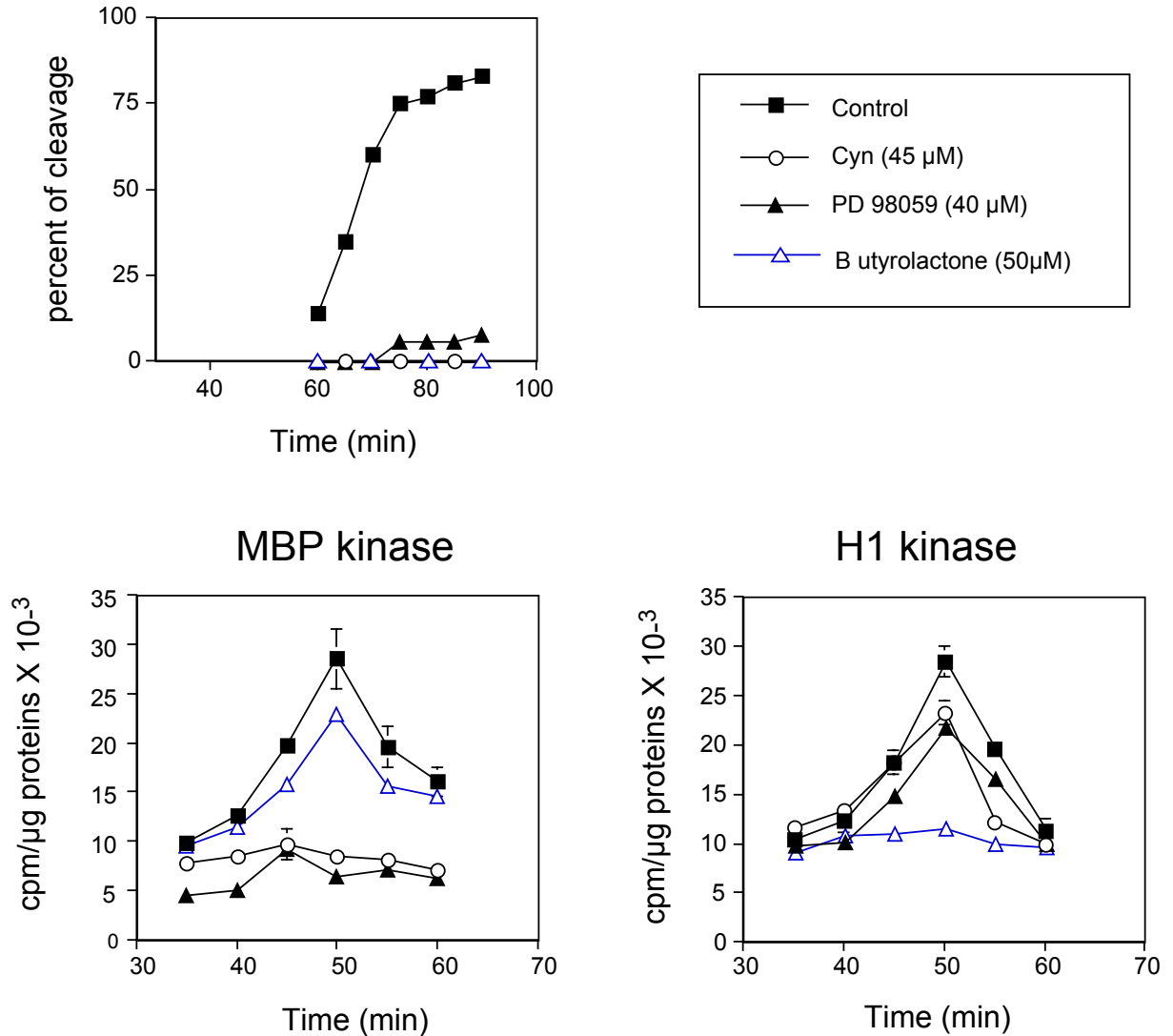


Figure 2. *In vivo* effects of caulerpenyne (45 μM), PD 98059 (40 μM) and butyrolactone 1 (100 μM) on H1 kinase and MBP kinase activity when added 1 min after fertilization. Egg samples were taken during mitosis as judged by light microscopy. Values ± SE are the averages of 3 experiments.

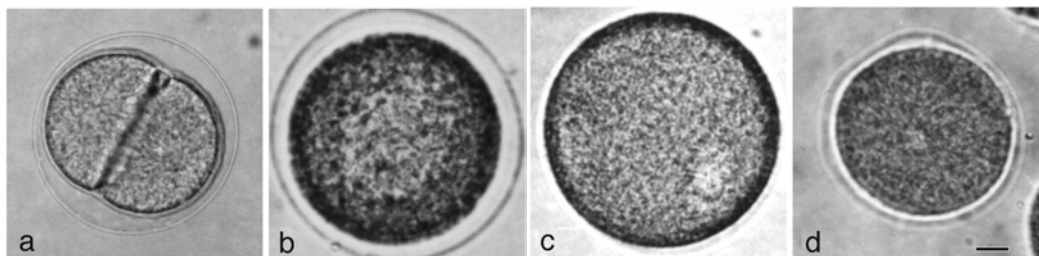


Figure 3. Comparison of the effect of caulerpenyne (45 μM) (b), PD 98059 (40 μM) (c) and butyrolactone 1 (50 μM) (d) on the first division of *Paracentrotus lividus* eggs. Control (a) and treated eggs (b-d) were observed by phase contrast microscopy (bar = 50 μm).

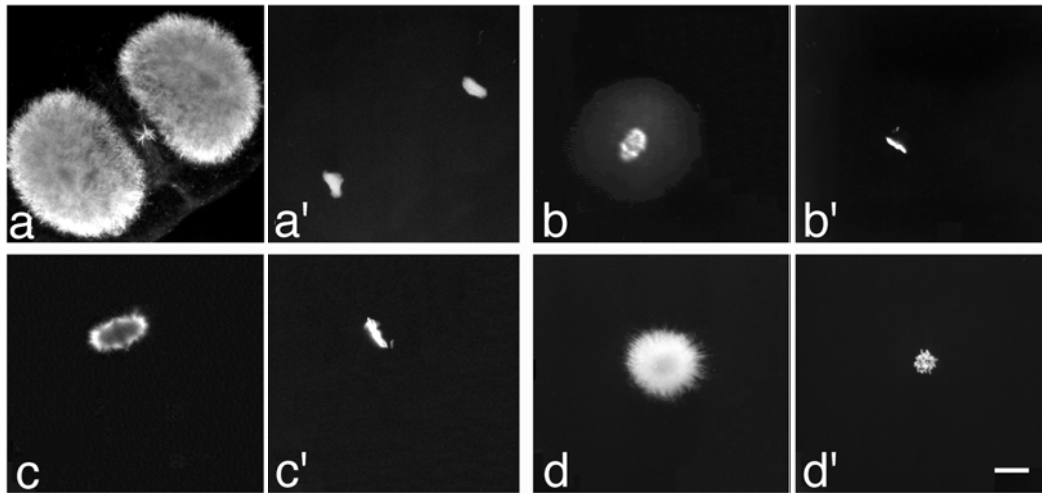


Figure 4. Fluorescent staining of sea urchin eggs treated by caulerpenyne (45 μ M) (b), PD 98059 (40 μ M) (c), or butyrolactone I (50 μ M) (d), (bar= 20 μ m). Control (a) or treated eggs (b-d) were fixed at the time of division in the control (75 min) and processed for immunofluorescence. Hoechst 33258 was used to visualize nuclei (a-d) and anti-tubulin antibodies permitted the visualisation of microtubules (a'-d'). Scale bar = 20 μ m.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Mitogen-activated protein kinase (MAPK), which has been associated with meiotic arrest in several oocytes (VERLHAC *et al.*, 1996) has been demonstrated in mitotic process in *Xenopus* eggs (TAKENATA *et al.*, 1997) and recently in fertilized sea urchin eggs during mitosis (PHILIPOVA & WHITAKER, 1998; CHIRI *et al.*, 1998) These authors showing that, although a significant level of MAPK activity persisted in unfertilized eggs, MBP-kinase activity and the maturing promoting factor (MPF) activities are stimulated at metaphase during the two division of the early development (PHILIPOVA & WHITAKER, 1998 ; CHIRI *et al.*, 1998). Furthermore, CHIRI *et al.* (1998) showed that MAPK activity is necessary for the fertilized egg to progress from metaphase to cleavage.

Using specific inhibitors we have shown here that a periodic activation and deactivation of MPF can occur normally in the MAPK inactivated extracts and inversely. This conclusion is in agreement with that of CHIRI *et al.* (1998) whose data suggest that two pathways would control mitosis of fertilized sea urchin eggs, one leading to MPF and the other to MAP-kinase stimulation. Our results first confirm those of PHILIPOVA & WHITAKER (1998) where mitogenic activation of MAPK follows closely that of H1-kinase activity. This finding was also observed in *Xenopus laevis* egg by TAKENATA *et al.* (1997).

This work also corroborates that of PHILIPOVA & WHITAKER (1998) who show that the MBP activity measured at mitosis is accounted for by the 44 kD MAP-kinase activity and that histone kinase does not contribute to the mitotic MBP activity.

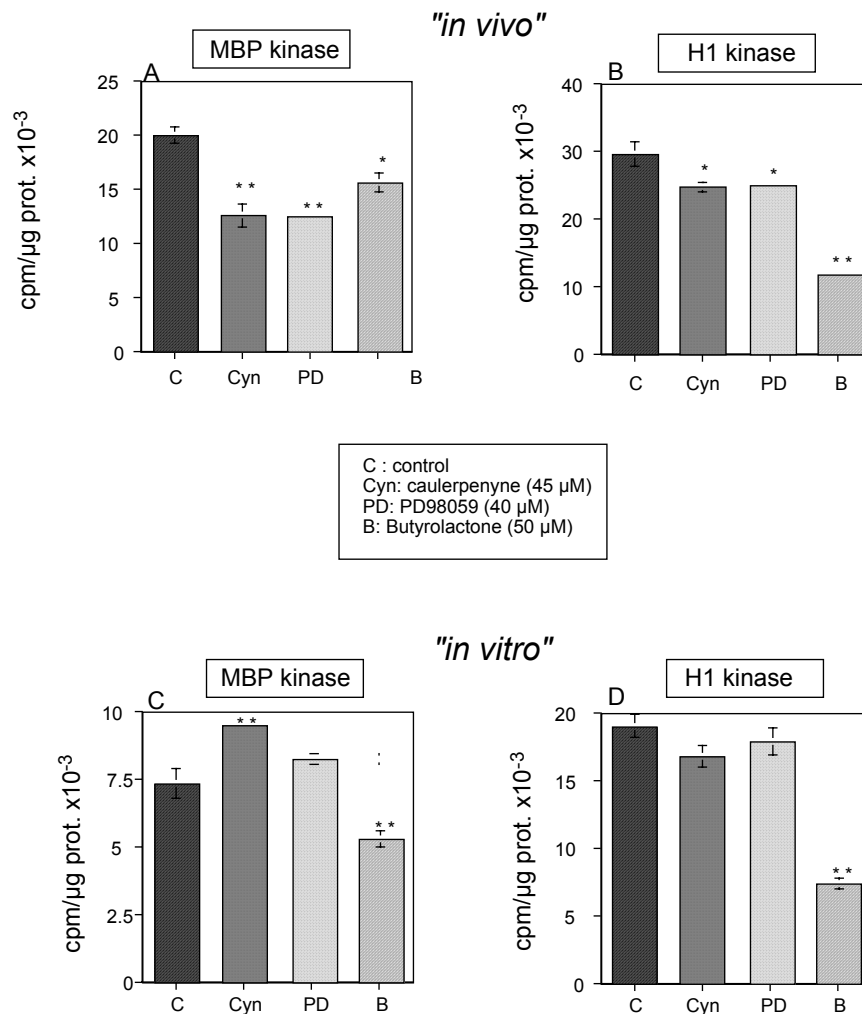


Figure 5. Comparison between *in vivo* and *in vitro* effects of 45 μM Caulerpenyne (Cyn), 40 μM PD 98059 (PD) and 50 μM Butyrolactone I (B) on H1 kinase and MBP kinase activities. Egg extracts were taken at metaphase (around 50 min), when the kinase activities are maximum in the untreated control (C) (see Fig. 4). Egg extracts were taken either from treated eggs ("*in vivo*") (A and B) or untreated eggs added later with the appropriate antimetabolic treatment ("*in vitro*") (C and D). Values ± SE are the average of 5 experiments.

Thus in view of these recent findings the aim of our work was to use mitotic-activated phosphorylating processes in sea urchin eggs to progress in the description of antimetabolic action of caulerpenyne (PESANDO *et al.*, 1996, 1998), in comparison with two well known inhibitors of MAPK and MPF processes, which have never been assayed on sea urchin eggs.

In the present study, we compare and specify how the synthetic MEK inhibitor PD 98059 and Cyn block MAPK/ERK cascade in sea urchin egg and how they affect mitotic cell cycle progression by interfering with nuclear events during metaphase. We show that inhibition of MAPK by both products induces unachieved metaphasic figures, therefore the maintenance of the H1-Kinase activity allows the cell cycle to progress only beyond the nuclear envelope breakdown.

Furthermore we also observe that the eggs treated with the H1K inhibitor butyrolactone 1 which does not affect MAPK activity, do not progress as far as those treated with PD 98059 and Cyn, and are arrested in pro-metaphase before the nuclear envelope breakdown. These results may be compared with those of KITAGAWA *et al.* (1994) who found that butyrolactone 1 inhibits H1 histone phosphorylation in human W138 cells and their G2/M progression.

However if Cyn and PD 98059 produce a similar effect by preventing the MAPK stimulation at inhibiting concentrations, it seems that Cyn has a more specific effect on the progression of the cell cycle as the eggs treated by Cyn are always arrested in pseudo-metaphase whereas a portion of those treated by PD 98059 go beyond this stage leading to abnormal cleavage.

Acknowledgments: This study was carried out as part of the ANVAR project A 96 07094U/AT and the pluridisciplinary research programme “*Caulerpa taxifolia*” of the Conseil des Communautés Européennes (Life 95, DG XI). P. HUITOREL was financed by the CNRS. The authors are indebted to B. CIAPA and C. DE NADAI from their helpful discussions and valuable advice, and R. LEMÉE for statistical analyses.

REFERENCES

- AMADE P., LEMÉE R., 1998. Chemical defences of the Mediterranean alga *Caulerpa taxifolia*: variations in caulerpenyne production. *Aquat. Toxicol.* 43 : 287-300.
- ALESSI D.R., CUENDA A., COHEN P., DUDLEY D.T., SALTIEL A.R., 1995. PD 098059 is a specific inhibitor of the activation of mitogen-activated protein kinase kinase in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.* 270 : 27489-27494.
- BIYITI L., PESANDO D., CHRISTEN R., PUISEUX-DAO S., GIRARD J.P., PAYAN P., 1990. Effect of antibacterial plant flavanones on the intracellular calcium compartment involved in the first cleavage. *Toxicol.* 28 : 275-283.
- BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for a quantification of microgram quantities of protein utilising a protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.
- CHIRI, S., DE NADAI C., CIAPA B. 1998. Evidence for MAP kinase activation during mitotic division. *J. Cell. Sci.* 111 : 2519-2527.
- COHEN P., 1997. The search for physiological substrates of MAP and SAP kinases in mammalian cells. *Trends Cell. Biol.* 7 : 353-361.
- COOLICAN S.A., SAMUEL D.S., EWTON D.Z., MCWADE F.J., FLORINI .R., 1997. The mitogenic and myogenic actions of insuline-like growth factors utilize distinct signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 272 : 6653-6662.
- FERREL J.E., WU M., GERHART J.C., MARTIN G.S., 1991. Cell cycle tyrosine phosphorylation of p34cdc2 and microtubule associated protein kinase homolog in *Xenopus* oocytes and eggs. *Mol. Cell. Biol.* 11 : 1965-1971.

GAGNON C., WHITE D., HUITOREL P., COSSON A.J., 1994. Monoclonal antibody against the dynein IC1 peptide of sea urchin spermatozoa inhibits the motility of sea urchin, dinoflagellate and human flagellar axonemes. *Mol. Biol. Cell.* 5 : 1051-1063.

HUITOREL P., KIRSCHNER M.W., 1988. The polarity and stability of microtubule capture by the kinetochore. *J. Cell Biol.* 106 : 151-159.

HUITOREL P., WHITE D., EDDÉ B., COSSON J., GAGNON C., 1996. New antitubulin antibodies that inhibit flagellar motility in vitro, stain mitotic spindles during sea urchin development. *Mol. Biol. Cell.* 7 : 209a.

KILMARTIN J.V., WRIGHT B., MILSTEIN C., 1982. Rat monoclonal antitubulin antibodies derived by using a new nonsecreting rat cell line. *J. Cell Biol.* 93 : 576-582.

KITAGAWA M., OKABE T., OBINO H., MATSUMOTO H., TAKAHASHI I.S., KOKUBO T., HIGASHI H., SAITOH S., TAYA Y., YASUDA H., OHBA Y., NISHIMURA S., TANAKA N., OKUMAYA A., 1992. Butyrolactone 1, a selective inhibitor of cdk2 and cdc2 kinase. *Oncogene* 8 : 2425-2432.

KITAGAWA M., HIGASHI H., TAKAHASHI I.S., OKABE T., TAYA Y., HISHIMURA Y., OKUYAMA A., 1994. A cyclin-dependent kinase inhibitor, butyrolactone 1, inhibits phosphorylation of RB protein and cell cycle progression. *Oncogene* 9 : 2549-2557.

MEIJER L., PONDAVEN P., 1988. Cyclic activation of histone H1 kinase during egg mitotic divisions. *Exp. Cell Res.* 174 : 116-129.

MEIJER L., KIM S.H., 1997. Chemical inhibitors of cyclin dependent kinases. *Methods in Enzymology*. William G. Dunphy eds, Academic Press San Diego, 283 : 113-128.

PAUL V.J., FENICAL W., 1997. Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpales. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 34 : 157-169.

PESANDO D., HUITOREL P., DOLCINI V., AMADE P., GIRARD J.P., 1998a. Effets de la caulerpénine, toxine majoritaire de l'algue *Caulerpa taxifolia*, sur les événements mitotiques chez les oeufs d'oursin. *Third int. workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., F. Palluy edit., GIS Posidonie publ., France : 149-160.

PESANDO D., HUITOREL P., DOLCINI V., AMADE P., GIRARD J.P., 1998b. Caulerpenyne interferes with microtubule-dependent events during the first mitotic cycle of sea urchin eggs. *Eur. J. Cell. Biol.* 77 : 19-26.

PESANDO D., LEMÉE R., FERRUA C., AMADE P., GIRARD J.P., 1996. Effects of caulerpenyne, the major toxin from *Caulerpa taxifolia* on mechanisms related to sea urchin egg cleavage. *Aqua. Tox.* 35 : 139-135.

PHILIPOVA R., WHITAKER M., 1998. MAP-kinase activity increases during mitosis in early sea urchin embryos. *J. Cell. Sci.* 111 : 2497-2505.

RUDNER A.D., MURRAY A.W., 1996. The spindle assembly checkpoint. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8 : 773-780.

SADLER K.C., RUDERMAN J.V., 1998. Components of the signaling pathway linking the 1-methyladenine receptor to MPF activation and maturation in starfish oocytes. *Dev. Biol.* 197 : 25-38.

SCOTT J.D., GLACCUM M.B., FISHER E.H., KREBS E.G., 1986. Primary structure requirements for inhibition by heat-stable inhibitor of the cAMP-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 1613-1616.

SHIBUYA E.K., BOLTON T.G, COBB M.H., RUDERMANN J.V., 1992. Activation of p42 MAP kinase and the release of oocyte from cell cycle arrest. *EMBO J.* 11 : 3963-3975.

SOMEYA A., TANAKA N., OKUYAMA A., 1994. Inhibition of cell cycle oscillation on DNA replication by selective inhibitor of the cdc2 kinase family, butyrolactone 1, in *Xenopus* egg extracts. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 198 : 536-545.

TAKENATA K., GOTO Y., NISHIDA E., 1997. Map kinase is required for the spindle assembly checkpoint but is dispensable for normal M phase entry and exit in *Xenopus* egg cell cycle extracts. *J. Cell Biol.* 136 : 1091-1097.

VERLHAC M.H., KUBIAK J.Z., CLARKE H.J., MARO B., 1994. Microtubule and chromatin behavior follow MAP kinase activity but not MPF activity during meiosis in mouse oocytes. *Development* 120 : 1017-1025.

VERLHAC M.H., KUBIAK J.Z., WEBER M., GÉRAUD G., COLLEDGE W.H., EVANS M.J., MARO B., 1996. Mos is required for MAP kinase activation and is involved in microtubule organization during meiotic maturation in the mouse. *Development* 122 : 815-822.

EFFECTS OF CAULERPENYNE ON THE NERVOUS SYSTEM OF THE LEECH *HIRUDO MEDICINALIS* : ELECTROPHYSIOLOGICAL AND NEUROETHOLOGICAL RESULTS

Marcello BRUNELLI, Riccardo MOZZACHIODI, Rossana SCURI & Maria Luisa ZACCARDI

Dipartimento di Fisiologia e Biochimica "G. Moruzzi", Università degli Studi di Pisa, 56127 Pisa, Italy

Key words: caulerpenyne (CYN), leech, sensitization, after-hyperpolarization (AHP)

ABSTRACT

The sesquiterpene caulerpenyne (CYN), the major metabolite synthesised by *Caulerpa taxifolia*, has been found to have neurotoxic effects. In order to test whether CYN affects nerve cell activity, we have performed both neuroethological and electrophysiological experiments on *Hirudo medicinalis*, an invertebrate that is widely used for neurobiological studies. Neuroethological experiments show that CYN induces a potentiation of swim induction following a light electrical stimulation on the ventral skin. This effect represents sensitization, a kind of non-associative learning. Electrophysiological recordings are carried out on T sensory neurones, the first point of the cellular network involved in swimming in the leech. These experiments demonstrate that CYN application reversibly reduces the amplitude of the post-hyperpolarization (AHP) that follows repetitive firing. Since our previous studies have shown that modulation of AHP amplitude is related to plastic changes occurring in the leech's nervous system, the data collected suggest that CYN might interfere with cellular mechanisms of learning processes.

RÉSUMÉ

Le sesquiterpène caulerpényne (CYN), métabolite majoritaire chez *Caulerpa taxifolia*, a des effets neuro-toxiques. Afin d'étudier les effets de CYN sur les cellules nerveuses, nous avons mené des expériences neuro-éthologiques et électrophysiologiques sur *Hirundo medicinalis*, un invertébré très utilisé pour les études neurobiologiques. Les expériences neuro-éthologiques ont montré que CYN lui donne la possibilité de nager sur le ventre, après stimulation lumineuse électrique. Cet effet est une sensibilisation, c'est à dire non consécutif à un apprentissage. Les enregistrements électrophysiologiques ont été menés sur les neurones sensoriels T, qui constituent la première position du réseau cellulaire à la base de la nage chez la sangsue. Ces expériences démontrent que l'application de CYN réduit, de façon réversible, l'amplitude de la post-hyperpolarisation (AHP) qui suit les stimulations répétitives. Nos études précédentes avaient montré que la modulation de l'amplitude AHP était due à des changements plastiques du système nerveux de la sangsue ; les données suggèrent donc que CYN peut interférer avec le mécanisme cellulaire de l'apprentissage.

INTRODUCTION

Caulerpenyne (CYN) is the major metabolite isolated from *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (GUERRIERO *et al.*, 1992). In the last few years, CYN has been tested on different biological models: the data collected demonstrate that this sesquiterpene has an antiproliferative effect (FISCHEL *et al.*, 1995), antibacterial activity (PAUL & FENICAL, 1986) and antimitotic action (PESANDO *et al.*, 1996). Nevertheless only few data are so far available on the effects of *C. taxifolia* metabolites on the nervous system. Some reports provide evidence of neurological disorders after ingestion of *Sarpa salpa*, a Mediterranean fish feeding on Caulerpales: some patients showed hallucinations and dizziness (CHEVALDONNE, 1990), others exhibited peripheral sensory disturbances (paresthesia, dysesthesia) (DE HARO *et al.*, 1994). These symptoms seem to be caused by the metabolites synthesized by *C. taxifolia* eaten by *Sarpa salpa* (DE HARO *et al.*, 1993).

The aim of our studies is to elucidate whether CYN directly affects nerve cell activity producing changes in behavioural processes. For this purpose we carried out experiments on the leech *Hirudo medicinalis*. This invertebrate has proven to be well-suited for neuroethological and electrophysiological investigations: in spite of its simple nervous system, it shows a wide range of complex behaviours related to well identified neural networks. The nervous system of the leech is made up of a 21 segmental ganglia chain, one cephalic ganglion and one caudal ganglion. All segmental ganglia contain a fixed number of cells and the sensory neurones can be easily identified by size and location of their somata, and by the shape and the amplitude of their action potential (NICHOLLS & BAYLOR, 1968).

Studies on *Hirudo medicinalis* enable us to achieve very interesting results regarding the cellular and molecular mechanisms of learning and memory (BRUNELLI *et al.*, 1997). Mechanical or electrical stimulation of the skin elicits a swim episode that occurs with a constant latency (BRODFUEHRER *et al.*, 1995). It has been demonstrated that in the leech swim induction involves short-term non-associative learning such as habituation, dishabituation and sensitization. Low rate application (1 / min) of light electrical stimuli (0.8-1.4 V) onto the body wall, leads to a progressive increase of the latency (habituation) (BRUNELLI *et al.*, 1997).

Nociceptive stimulation (*i.e.* brushing on the dorsal skin) strongly reduces the latency both in naive animals (sensitization) and in leeches previously trained with the habituating session (dishabituation) (BRUNELLI *et al.*, 1997).

Light stimulation of the skin selectively activates T sensory neurones that are the first station in the neural circuitry involved in swimming (DEBSKY & FRIESEN, 1987). When T neurones are stimulated, they exhibit a burst of spikes and their membrane potential shifts towards more hyperpolarized values (after-hyperpolarization or AHP) (BAYLOR & NICHOLLS, 1969). In the leech AHP plays a pivotal role in the integration of sensory impulses (VAN ESSEN, 1973) and modulation of its amplitude seems to be involved in short-term plastic changes. Therefore we have analysed CYN effects both on AHP in T neurones and in short-term non associative learning.

MATERIAL AND METHODS

Adult leeches of the species *Hirudo medicinalis* were purchased from a local supplier. Leeches were kept in aquarium at 15 °C and exposed to natural daylight rhythm. They were anaesthetised in 10 % ethanol in tap water for 10 min and then pinned ventral side up to the paraffin floor of a Plexiglas chamber. During surgery, animals were constantly perfused with a saline solution containing 115 mM NaCl, 4 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 10 mM glucose, buffered at pH 7.4 with 10 mM TRIS-maleate (MULLER *et al.*, 1981).

Neuroethological methods

The connective between the cephalic and the first segmental ganglion was surgically cut in order to remove the tonic inhibition exerted by the head ganglion on the swimming activity (BRODFUEHRER & FRIESEN, 1986). Suture was made with chromic Catgut (Ethicon 6/0). Two days after the surgery, each animal was restrained in a Plexiglas chamber with its caudal sucker lying on bipolar Ag-AgCl electrodes connected to a standard isolation unit (SIU). The chamber was filled with a solution containing: 0.48 mM NaCl, 0.0067 mM KCl, 0.0034 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 0.001 mM MgSO₄·7H₂O and 0.046 mM TRIS-maleate at pH 7.4 with HCl.

Leeches were stimulated with light electrical shocks supplied by a constant current pulse train generator: each stimulus consists of a train of 1.6 sec duration made of 5 msec pulses (10 Hz). The intensity of the stimulation was set at the minimal voltage capable of producing a swimming response in each animal, taken as threshold; we found that this value ranged from 0.8 V up to 1.4 V. The interval between the electrical stimulation and the beginning of swimming (latency) was measured by means of a computer with a suitable software (Numerica Progetti s.r.l., Pisa).

In a typical sensitization session, the leech was subjected to four threshold electrical trains (“test trials”) at variable intervals from 2 up to 10 min: the latencies obtained do not statistically differ from each other and represent the animal’s response to a neutral stimulus. Then a nociceptive stimulation, consisting of 15 brushings, was delivered on the dorsal skin and soon after the animal was stimulated with 15 threshold electrical trains at constant intervals (1 / min).

Drugs were injected at two different sites of the dorsal animal’s dorsal body wall (100 µl/g of animal weight for each injection). Sensitization has usually been represented in graphs as an increase in the amplitude of a response: since in our experiments sensitization is observed as a reduction of latency in swim induction, on the ordinate we represented the data as the inverse of latency ($1 / L_x$) in order to give a better illustration of our results. All the data are normalised to the average of the inverse of the responses to the test trials ($1 / L$) taken as 100 %.

Electrophysiological technique

Short chains of segmental ganglia were surgically isolated at midbody level, and one hour later pinned on the bottom of a recording chamber coated with Sylgard[®]. Ganglia were constantly perfused with the saline solution at the rate of 1.5 ml / min by means of a peristaltic pump.

Intracellular recordings were performed with the current-clamp technique. Pipettes were pulled from borosilicate capillaries, with a Brown Flaming P-87 puller. Microelectrodes were filled with 4 M potassium acetate and their impedance ranged from 60 to 80 M Ω . In T neurones AHP was induced by injection of 10 sec trains of intracellular depolarising pulses (200 msec, 2.5 Hz). Only cells with resting potential of at least -40/-50 mV and input resistance greater than 70 M Ω were selected. The discharge frequency of each series of trials was kept constant by adjusting the amount of injected current (0.4-0.8 nA). In each experiment AHP amplitudes measured during CYN application and during washout were normalised to the AHP value recorded in saline solution (control) taken as 100 %. The traces were displayed on the screen of a storage oscilloscope and collected on a tape recorder connected to a pulse code modulator. All the experiments were carried out at room temperature.

Caulerpenyne preparation

Fresh algae of *Caulerpa taxifolia* were collected at Imperia and Isola d'Elba (Italy) and CYN was purified with the method of PESANDO *et al.* (1996). CYN was dissolved in DMSO (dimethylsulfoxide) 1:1000, sonicated and then added to the saline solution to reach the final concentration.

Statistical analysis

Both neuroethological and electrophysiological data were expressed as means \pm SEM and analysed with non parametric Wilcoxon test: this statistical test is widely employed when normal distribution of the data cannot be ensured as in handling data expressed in percentage. In all the graphs, significance was indicated as * ($P \leq 0.05$).

RESULTS

With the aim of ascertaining whether CYN affects the animal response to a neutral threshold stimulus, a group of 17 leeches were subjected to four test trials (I-IV) and then injected (\uparrow) with 500 μ M CYN. 30 min after injection, they were stimulated with 15 threshold electrical shocks at constant intervals (1 / min). The treatment with the toxin induced a sensitizing effect: the animals showed an enhancement up to 63 % of the response to the test stimulus (fig. 1).

A control group of 9 animals was injected with saline solution containing DMSO 1:1000 and trained with the same experimental protocol: their responses were not enhanced at all (fig. 1). On the contrary, we detected a progressive significant decline of the response during the 15 trials of stimulation (habituation): at the end of the training session, the animal's response fell to 10 % of the test trials response.

Finally, we have compared the sensitization induced by CYN with that produced by brushing. A group of 7 animals subjected to a typical sensitization session showed a potentiation of the response (fig. 2) like the CYN treated animals. The brushing treated animals gradually reduced their responses during the training session and they were habituated, while the animals injected with the biotoxin showed potentiated responses throughout the whole training session.

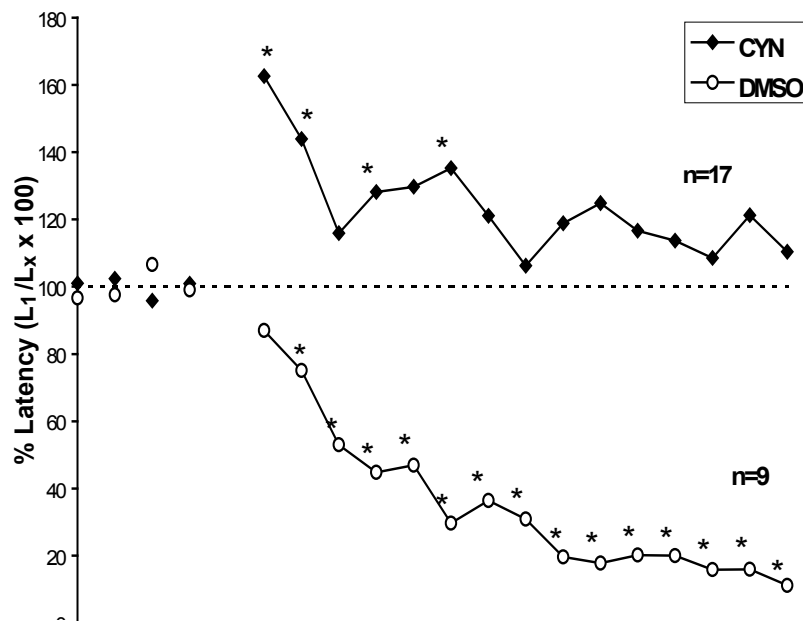


Figure 1. 500 μ M CYN injected into the animals elicits a clear-cut increase of the swimming response (\blacklozenge) induced by electrical stimulation in a group of 17 leeches. The response remains over 100 % during repetitive stimulation. In a control group of 9 leeches injected with DMSO 1:1000 in saline (\circ), the swimming response is not enhanced after treatment and decreases up to 20 % of the initial value during repetitive stimulation (habituation).

Since changes in AHP amplitude are thought to be related to elementary forms of learning such as habituation, dishabituation and sensitization in the leech (BRUNELLI *et al.*, 1997), we performed electrophysiological recordings to test whether CYN affects this parameter. When segmental ganglia were perfused for 15 min with 50 μ M CYN, the amplitude of AHP was strongly reduced (40 % of control value). The maximum decrease of AHP amplitude was detected 15 min after washing the sesquiterpene with saline solution AHP amplitude partially restored towards the initial value after 30 min washout (fig. 3). Control experiments demonstrated that DMSO 1:1000 alone did not change significantly AHP amplitude (data not shown).

DISCUSSION

The data reported in this paper clearly demonstrate that CYN interferes with elementary learning processes in *Hirudo medicinalis*: the toxin mimics the effect of a nociceptive treatment eliciting a clear-cut potentiation of the swimming response (behavioural sensitization) and it prevents the progressive decrease of the response following repetitive stimulation (habituation).

In the leech, T tactile neurones control sensory inputs that activate the swim motor program. Clear evidence suggests that modulation of the after-hyperpolarization is involved in plastic changes during learning processes: the increase of AHP amplitude might lead to habituation while the AHP reduction induces sensitization (BRUNELLI *et al.*, 1997).

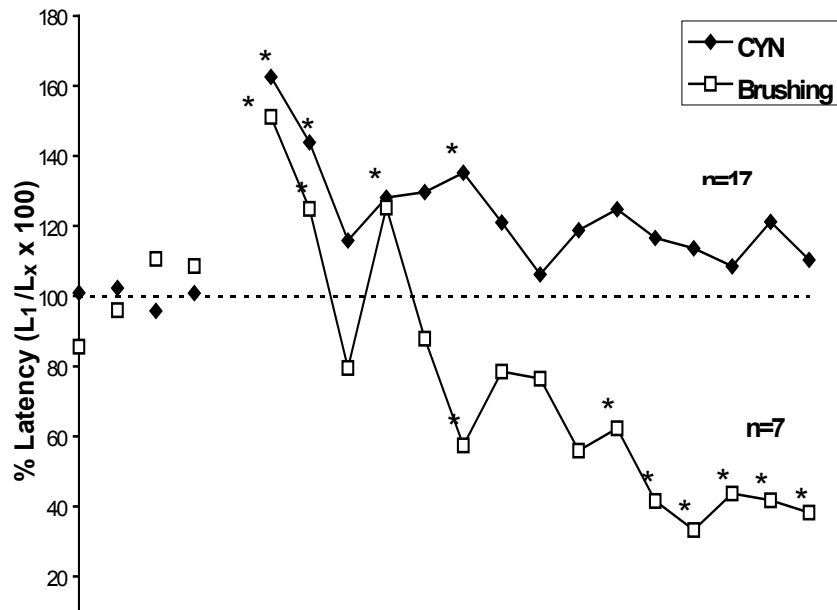


Figure 2. In the graphs the effect of CYN injection on swimming response (◆) is compared with that elicited by brushing on the dorsal skin (○): both treatments lead to an enhancement of the response but the rate of habituation is strongly reduced in the leeches injected with CYN.

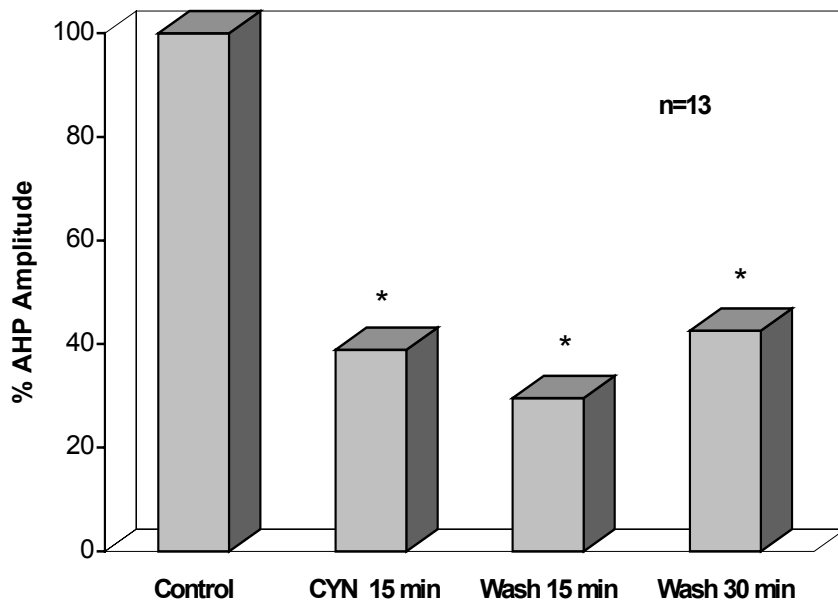


Figure 3. The histograms show that 15 min perfusion with 50 μ M CYN strongly depresses AHP amplitude in T neurones. The maximum effects of CYN are detected after 15 min washing with saline. The AHP amplitude starts to recover toward the control value after 30 min washout. Asterisks mean significance ($P \leq 0.05$) of the AHP values versus AHP control value.

Our electrophysiological data show that CYN strongly depresses AHP in a reversible manner. Therefore, we suggest that the effect of caulerpenyne on some forms of elementary learning processes occurs through the modulation of AHP, a very important electrophysiological parameter which controls the traffic of the nervous impulses along the neuritic tree of sensory neurones. This result demonstrates, for the first time, that CYN can interfere with the activity of the nervous system.

In T neurones in the leech, AHP is mainly due to the activation of the enzyme Na^+/K^+ ATPase and partially to a calcium-dependent potassium current ($\text{gCa}^{++}/\text{K}^+$) (BAYLOR & NICHOLLS, 1969; JANSEN & NICHOLLS, 1973): while the electrogenic pump is present in almost all animal cells where it controls important cellular functions, the $\text{gCa}^{++}/\text{K}^+$ modulates the firing and adaptation of various nerve cells. It is therefore of great interest to carry out further investigations with the aim of elucidating which component generating AHP is the molecular target of caulerpenyne.

Moreover, it is important to study whether CYN binds specific membrane receptors or whether it crosses the lipidic bilayer diffusing in the cytoplasm. It has been reported that CYN may act on intracellular targets like Ca^{++} ATPase (PESANDO *et al.*, 1996). Another fascinating hypothesis is that CYN just remains inserted into the membrane twisting some of its components (for example the Na^+/K^+ ATPase) and so altering their activity.

REFERENCES

- BAYLOR D.A., NICHOLLS J.G., 1969. After effects of nerve impulse on signalling in the central nervous system of the leech. *J. Physiol.* 203 : 571-589.
- BRODFUEHRER P.D., DEBSKI E. A., O'GARA B.A., FRIESEN W.O., 1995. Neuronal control of leech swimming. *J. Neurobiol.* 27 : 403-418.
- BRODFUEHRER P.D., FRIESEN W.O., 1986. Control of leech swimming activity by the cephalic ganglia. *J. Neurobiol.* 17 : 697-705.
- BRUNELLI M., GARCIA-GIL M., MOZZACHIODI R., SCURI R., ZACCARDI M.L., 1997. Neurobiological principles of learning and memory. *Arch. Ital. Biol.* 135 : 15-36.
- CHEVALDONNE P., 1990. Ciguatera and the saupe, *Sarpa salpa* (L), in the Mediterranean : a possible misinterpretation. *J. Fish Biol.* 37 : 503-504.
- DEBSKI E.A., FRIESEN O.W., 1987. Intracellular stimulation of sensory cells elicits swimming activity in the medicinal leech. *J. Comp. Physiol. (A)* 160 : 447-457.
- DE HARO L., TREFFOT M.J., JOUGLARD J., PERRINGUE C., 1993. Trois cas d'intoxication de type ciguateresque après ingestion de sparidae de Méditerranée. *Ictyo Physiologica Acta* 16 : 133-146.
- DE HARO L., JOUGLARD J., THOMAS M., DAVID J.M., 1994. Intoxications de type ciguaterique après ingestion de sparidae Méditerranées. *First International Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 271-276.
- FISCHEL J.L., LEMÉE R., FORMENTO P., CALDANI C., MOLL J.L., PESANDO D., MEINESZ A., GRELIER P., PIETRA F., GUERRIERO A., MILANO G., 1995. Cell growth inhibitory effects of

caulerpenyne, a sesquiterpenoid from the marine algae *Caulerpa taxifolia*. *Anticancer Res.* 15 : 2155-2160.

GUERRIERO A., MEINESZ A., D'AMBROSIA M., PIETRA F., 1992. Isolation of toxic sesqui- and monoterpenes from tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of Cap Martin and Monaco. *Helvetica Chimica Acta* 75 : 689-695.

JANSEN J.K.S., NICHOLLS J.G., 1973. Conductance changes, an electrogenic pump and the hyperpolarization of leech neurones following impulses. *J. Physiol.* 229 : 635-655.

MULLER K.J., NICHOLLS J.G., STENT G.S., 1981. Neurobiology of the leech. *Cold Spring Harbor Laboratory*, NY.

NICHOLLS J.G., BAYLOR D.A., 1968. Specific modulation and receptive fields of sensory neurones in CNS of the leech. *J. Neurophysiol.* 31 : 740-756.

PAUL V.J., FENICAL W., 1986. Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpales. *Mar. Ecol.* 34 : 175-169.

PESANDO D., LEMÉE R., FERRUA C., AMADE P., GIRARD J.P., 1996. Effects of caulerpenyne, the mayor toxin from *Caulerpa taxifolia* on mechanisms related to sea urchin egg cleavage. *Aquatic toxicology* 35 : 139-155.

VAN ESSEN D.C., 1973. The contribution of membrane hyperpolarization to adaption and conduction block in sensory neurones of the leech. *J. Physiol.* 230 : 509-534.

CAULERPENYNE BEHAVIOUR IN SEAWATER: BY-PRODUCT INVESTIGATIONS

Philippe AMADE, Laleh JONCHERAY, Fabrice LORU & Danielle PESANDO

Laboratoire de Physiologie et Toxicologie Environnementales, Université de Nice-Sophia Antipolis, Faculté des Sciences, Parc Valrose, 06108 Nice, Cedex 08, France

Key words: Caulerpenyne, sesquiterpene, cytotoxicity, degradation, by-products

ABSTRACT

Caulerpenyne (Cyn) is known to be toxic (microalgae, sea urchins eggs, etc.) and to be quickly transformed in water into toxic by-products. After the preparation of a large amount of purified Cyn extracted from *Caulerpa taxifolia*, several degradations were carried out in water (natural, acidic and basic conditions) to obtain, after isolation by chromatography, sufficient amounts of transformed compounds to allow determination of their chemical structure as well as their toxicological assessment. The number of compounds so formed is very large. In addition to the classic spectroscopy studies (NMR, MS, UV and IR) we used the HPLC coupled with MS-MS technique. The chemical structure of some compounds is discussed as well as their possible presence in the Ascoglossan mollusk *Elysia subornata*, a predator of *C. taxifolia*, and in the fishes *Symphodus ocellatus* and *S. rostratus*.

RÉSUMÉ

La caulerpényne (Cyn), connue pour ses propriétés toxiques (microalgues, oeufs d'oursins, etc.), se dégrade rapidement dans l'eau et les produits de sa transformation sont eux-même toxiques. Après avoir purifié en quantité la Cyn à partir d'extraits de *Caulerpa taxifolia*, plusieurs expériences de dégradation en milieu aqueux ont été réalisées (eau, milieux acide et basique) dans le but d'obtenir, après leur isolement par chromatographie, des quantités suffisantes de produits pour permettre leurs études structurales et toxicologiques. Le nombre de produits ainsi formés est très grand. En plus des techniques spectroscopiques traditionnelles (RMN, MS, UV et IR) nous utilisons la HPLC couplée à la MS-MS. Nous discutons de la structure chimique de quelques molécules que nous avons aussi recherché dans le mollusque Ascoglosses *Elysia subornata* prédateur de *C. taxifolia* et dans les poissons *Symphodus ocellatus* et *S. rostratus*.

INTRODUCTION

The benthic subtropical green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (Ulvophyceae, Caulerpales) introduced into the Mediterranean has spread over all types of substrate including rocks, sand and mud (MEINESZ & HESSE, 1991; MEINESZ *et al.*, 1997) inducing a modification in the Mediterranean ecosystem with a notable decrease in biodiversity (BELLAN-SANTINI *et al.*, 1996; VERLAQUE & FRITAYRE, 1994).

Caulerpales are known to develop an efficient strategy against grazers and fouling organisms by producing repellent and toxic secondary metabolites (FAULKNER, 1987; PAUL & FENICAL, 1986). Caulerpenyne (Cyn) was identified in 9 species of Caulerpales outside the Mediterranean (PAUL & FENICAL, 1986), in *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux (AMICO *et al.*, 1978; GAVAGNIN *et al.*, 1994) and *C. taxifolia* from the Mediterranean, as the major secondary metabolite (GUERRIERO *et al.*, 1992) produced in large amounts in the alga with seasonal variations (AMADE & LEMÉE, 1998a). The biological activity of this sesquiterpene in marine models emphasises its potential ecological impact: antifeeding role, cleavage inhibition of sea urchin eggs ($IC_{50} = 16 \mu\text{g/ml}$), ciliates, microalgae and marine bacteria (LEMÉE *et al.*, 1993, 1994; DINI *et al.*, 1994; GIANNOTTI *et al.*, 1994), ichthyotoxic effects (PAUL & FENICAL, 1986, 1987). Other minor metabolites such as epoxycaulerpenyne and taxifolials (GUERRIERO *et al.*, 1992; LEMÉE *et al.*, 1993) are also implicated in the toxicity of *C. taxifolia*.

Our work for the European program "Control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea" focused on: the extraction and purification of caulerpenyne (Cyn), the performance of Cyn quantification in the alga and the problem of its behaviour in the food chain with the study of its by-products.

In seawater, Cyn is transformed into toxic compounds (AMADE *et al.*, 1996, 1998b) and we carried out Cyn degradation to produce such compounds in sufficient amounts to allow purification and structural analysis (NMR, Mass spectrometry, etc.). Various conditions were tested to optimize the yields in by-products. New preparation of pure Cyn used in the chemical degradation as well as in the biological screenings, allowed us to obtain Cyn in its crystallized form which has been studied by X-ray crystallography. Degradations in acid, basic and neutral conditions furnished a high number of compounds in very low amounts and often unstable. From water Cyn degradation, we obtained known compounds isolated from the alga by GUERRIERO *et al.* (1992, 1993).

MATERIAL AND METHODS

Extraction, Chromatographic purification of Cyn

The acetonic extract of *Caulerpa taxifolia* is concentrated, frozen then re-extracted with ethyl acetate to eliminate water. This extract was dried under vacuum and dissolved in heptane to be chromatographed on a silica column successively eluted with toluene (I), heptane (II), acetone (III) and washed with methanol (IV). Cyn was present in fraction III but mostly in fraction II. Cyn was obtained from the heptane fraction II after a LH20 Sephadex chromatography eluted with methanol-water 7:3 and the final purification was performed on a silica normal phase column in HPLC conditions (hexane-ethyl acetate 8:2). Cyn was recrystallized in hexane and X-ray analysis furnished the tridimensional structure (fig. 1).

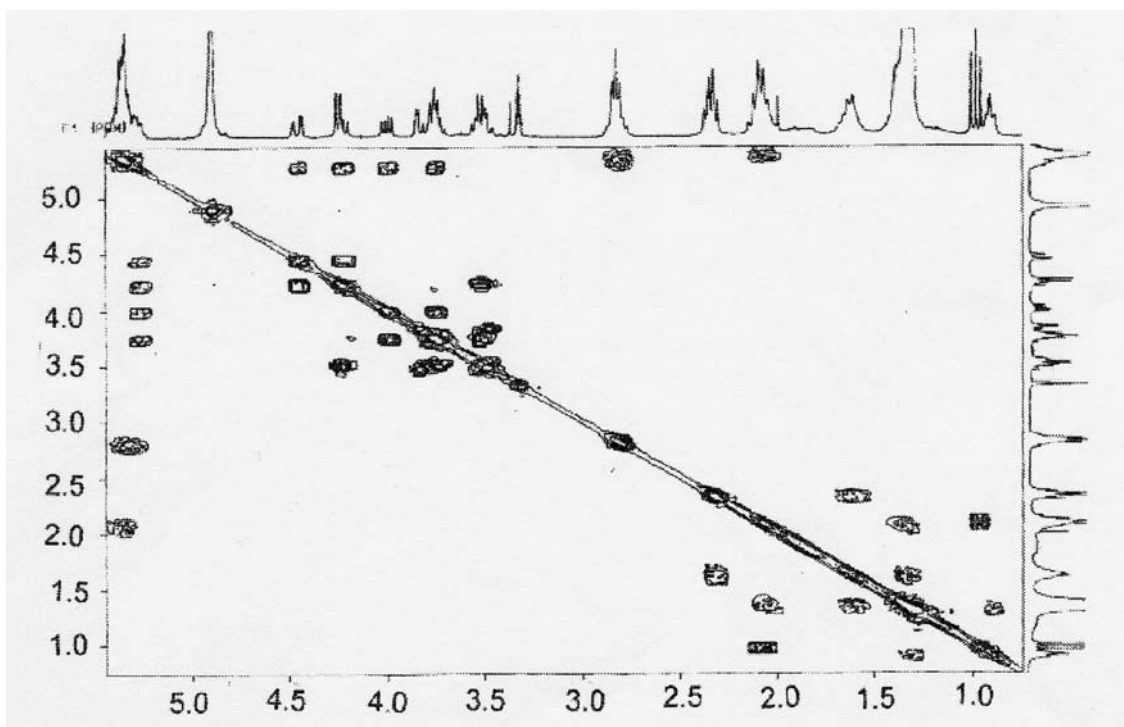


Figure 1. Molecular structure of Caulerpenyne: X-ray and assignments.

HPLC quantification and calibration

Quantification of Cyn is achieved by HPLC in reverse phase conditions using a Chromspher RP 18 column (100 x 3 mm, 5 μ m, ChrompackTM), eluted with the mixture methanol-water 8:2 at 0.5 ml / mn. The UV detector allows the minimum Cyn detection at 30 ng in 250 μ l of extract injected. A WatersTM HPLC is used: pump and controller 600, UV photodiode array detector 996 and Wisp 712 autoinjector driven by a Millennium software on a Digital computer. Cyn and its by-products were tentatively searched for different methanolic extracts prepared from *Caulerpa taxifolia*, from the mollusk *Elysia subornata* Verrill 1901 grown in aquarium (body and mucus separated) and from fishes caught at Cap Martin: 1 *Symphodus rostratus* Bloch, 1797 and 6 *Symphodus ocellatus* Forsskål, 1775.

Fraction II degradation (Cyn 88 %)

Sea water (SW) used in degradation experiments was previously filtered (0.22 μ m) and extracted with dichloromethane. 2 g of fraction II were solubilized in 50 ml of EtOH then placed in 900 ml of SW for 19 hours then partitioned with Et₂O. Ether extract was dried under vacuum and chromatographed on silica column successively eluted with hexane, hexane-AcOEt 95:5, hexane-AcOEt 8:2, hexane-AcOEt 1:1, AcOEt 100 %, AcOEt-MeOH 8:2 and AcOEt-MeOH 1:1. The composition of each fraction so obtained were controlled on silica TLC as shown in figure 2A. This experiment were carried out in natural seawater and in acid (HCl adduct until pH = 1) and under basic conditions (NaOH adduct until pH = 10). Only 25 % of Cyn were degraded under these conditions.

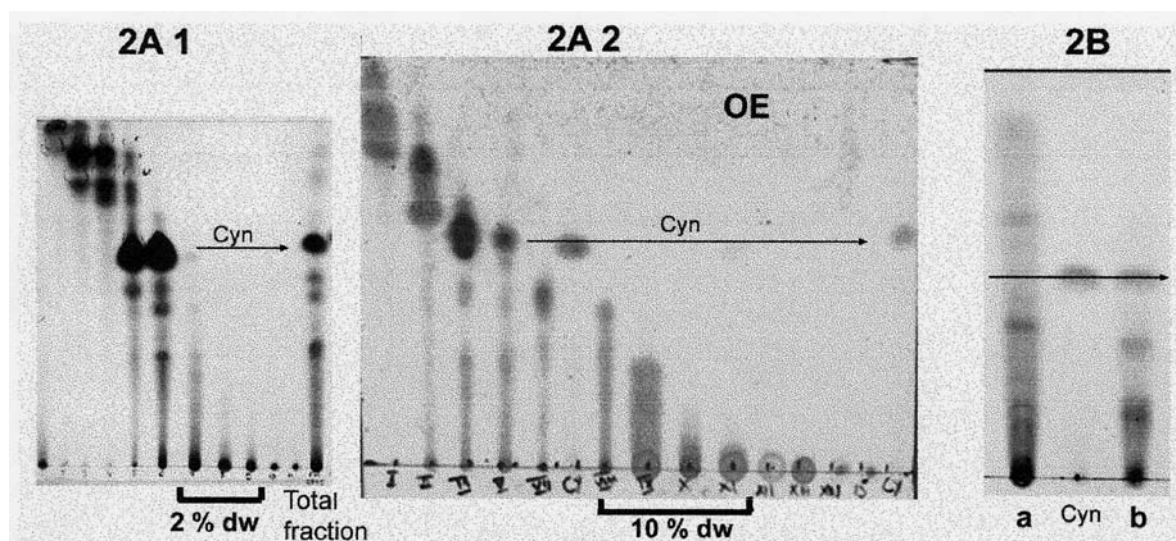


Figure 2. Cyn degradation:

2A - Silica TLC (migration hexane / AcOEt 8:2) of the fractions obtained after liquid chromatography on silica column (hexane, AcOEt, MeOH) of the:

- **1** - initial heptanic extract II of *Caulerpa taxifolia* Cyn = 88 %;
- **2** - dichloromethane extract obtained after seawater degradation.

2B - Silica TLC (migration hexane / AcOEt 8:2) of the extract obtained after pure Cyn degradations in acidic conditions: a = EtOH / H₂SO₄ 1 %; Cyn = pure standard; b = EtOH / AcOH 0.5 %.

Pure Cyn degradation

Pure Cyn was degraded in acidic medium with strong (H₂SO₄) or weak acid (CH₃COOH), and in water. The resulting transformation was monitored on silica TLC (fig. 2B):

1 - H₂SO₄ // EtOH: 0.5 ml of H₂SO₄ was added to a solution of Cyn (210 mg) in 50 ml EtOH and heated at 50 °C for 1 hour;

2 - CH₃COOH // EtOH: 8.5 ml of CH₃COOH was added to a solution of Cyn (800 mg) in 250 ml EtOH and stirred at room temperature for 1 week. The solution was partitioned with CH₂Cl₂ and the extract so obtained was chromatographed on a LC silica column eluted with Hexane-CH₂Cl₂ 1:1 to CH₂Cl₂ 100 %, 11 fractions were collected. The fraction eluted with CH₂Cl₂ 100 % was purified on a semi-preparative Diol column to obtain 4 compounds: F1, F2, F3 and F4.

3 - Water // CH₂Cl₂: 100 ml of distilled water was added to a solution of Cyn (330 mg) in 150 ml CH₂Cl₂, stirred and heated at 55 °C for 20 days. After settling, the extract was dried and chromatographed on a LC silica column successively eluted by Hexane-CH₂Cl₂ 1:9 to CH₂Cl₂ 100 %, AcOEt 100 % and AcOEt-MeOH 8:2. The fraction eluted with CH₂Cl₂ 100 % was chromatographed on a C₁₈ Magnum 9 column (10 µm, 25x10 mm) eluted with MeOH-Water 8:2 (3 ml / mn) to get purified compounds and on a Chrompack C₁₈ column (5 µm, 100x3 mm) to get the results of the LC-MS analysis (fig. 3).

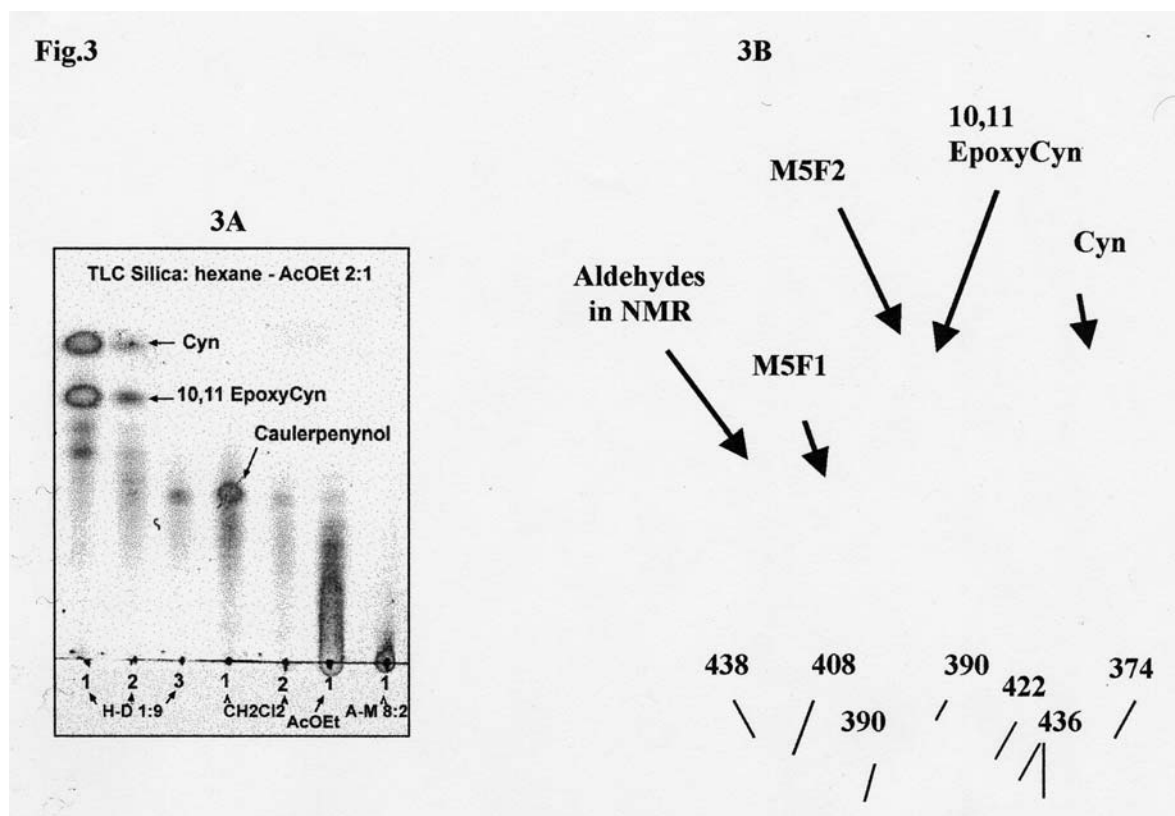


Figure 3. Cyn degradation in water:

3A - TLC of the fractions obtained after semi-preparative Silica LC of the CH_2Cl_2 extract of Cyn degradation in water;

3B - LC-MS study of the CH_2Cl_2 extract of Cyn degradation in water: chromatographic profile in reverse phase HPLC (= User) with the indication of the compounds subsequently identified by NMR (^1H , ^{13}C) and the corresponding answer in MS (RIC, ionic current), the molecular mass of each product is indicated.

Structural analysis

NMR studies were carried out at Nice University on a 200 MHz Bruker (GUMPAC, Sciences Faculty) and at Perpignan on a 400 MHz Bruker (GEMMIB, Centre de Phytopharmacie). Mass Spectrometry and tandem HPLC // MS-MS "electrospray" studies were performed with a Finnigan TSQ 7000 Spectrometer at Nice University (Chemistry Department).

Biological activity

The antiproliferative effect on the cleavage of the sea urchin eggs (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) was estimated according to the procedure described by BIYITI *et al.* (1990). In treated eggs, the percentage of divided eggs was determined 30 minutes after the beginning of the cell division in the control. This value allows determination of the inhibiting effect of the compounds tested.

RESULTS

Cyn structure // Rx

Cyn crystallized from hexane in an orthorhombic crystal system (space group P212121) and X-ray study (crystal size 0.24 x 0.22 x 0.22 mm) allowed identification of the tridimensional structure of Cyn (fig. 1), with two possible enantiomers related to the presence of the C₅ asymmetric carbone.

Cyn bi-dimensional 400 MHz NMR (VCOSYNH, VHMBC, VCHSHF) in dichloromethane (CD₂Cl₂) allowed the attribution of each C and H of the Cyn molecule in accordance to GUERRIERO's results (1992). This study was necessary to identify the modified parts of the by-products isolated from the Cyn transformation experiments (tab. I).

Cyn degradation

Degradation experiments gave a high number of by-products and we had to obtain sufficient amounts of each compound to allow structural analysis and to determine the corresponding biological activity.

Using extract II (2 g, Cyn 88 %), several degradations were carried out in sea water (SW), in SW + acid and in SW + base. Preparative silica LC chromatography allowed separation of by-products as a function of the polarity and the fractions eluted with the mixture hexane-AcOEt 1:1 and AcOEt 100 % corresponded to a 10 to 15 % enrichment in weight, referring to the corresponding fractions obtained after the initial extract chromatography under the same conditions. Only 25 % of Cyn were transformed in these experiments, so we planned to use more drastic conditions.

Pure Cyn was transformed in strong acid conditions (H₂SO₄) in numerous compounds and disappeared totally from the solution whereas in weak acid (degradation Cyn - EtOH/CH₃COOH) the number of by-products was lower and approximately 15 % of Cyn was left (fig. 2B). This last experiment allowed the purification of 4 compounds which correspond to adducts of hydroxyl and ethoxy groups to the Cyn on bond C₁₀-C₁₁ for F1 with its diastereoisomer F2, and on bond C₆-C₇ for F3 with its diastereoisomer F4. These structures were determined according to mass and NMR data and referring to the NMR studies of Cyn which allowed the attribution of each NMR signal for Cyn and F3 (tab. I).

The chromatographic study of the dichloromethylene extract obtained from Cyn degradation in water led to the purification of three compounds with the same mass 390: M5F1, M5F2 and M5F3. The tandem HPLC // MS-MS electrospray study is shown in figure 3. Each peak of the chromatogram was studied in MS-MS to identify fragmentations and to determine the "adducts" Na⁺, K⁺, NH₄⁺. In subsequent NMR analysis (¹H, ¹³C, H-C correlations) M5F3 was identified as the 10,11 epoxycaulerpenyne and M5F1, M5F2 as the two possible diastereoisomers of caulerpenynol. In accordance to the published data (GUERRIERO *et al.*, 1993; RAFFAELLI *et al.*, 1997) M5F2 was authenticated to the caulerpenynol (hydroxyl group in C₆ backside). Other compounds with an aldehydic function identified in ¹H

NMR and with molecular weights 408 and 438, are under investigation, as well as the more polar compounds of the dichloromethane extract eluted at the beginning of the chromatogram in RP chromatography (fig. 3).

Table I. Cyn and F3: ¹H and ¹³C NMR chemical shifts and attributions (400 MHz, in CD₂Cl₂).

Carbon n°		¹ H		¹³ C	
		Cyn	F3	Cyn	F3
1	=CH	7.610 d	7.568 d	137.340	137.175
2	=CH	5.834 dd	5.831 d	109.359	109.688
3	=C-	-	-	121.795	120.588
4	CH-O	5.924 t	6.015 dd	69.180	67.388
5	CH ₂	2.558 dm	1.55//2.35	32.385	35.896
6	=CH	5.693 tm	3.724 d	130.372	72.801
7	=C-	-	-	119.271	76.751
8		-	-	94.363	90.467
9		-	-	85.402	85.457
10	=CH	5.322 m	5.290	105.390	104.531
11	=C-	-	-	148.623	150.068
12	Me	1.871 s	1.820	20.973	24.850
13	=CH	7.224 s	7.168 s	134.395	133.755
14	Me	1.817 s	1.350	17.864	20.600
15	Me	1.809 s	1.890	24.868	24.800
CH ₃ COO	13	2.174	2.176 s	20.808	21.100
CH ₃ COO	1	2.120	2.119 s	20.808	20.100
CH ₃ COO	4	2.039	2.039 s	21.101	20.100
CH ₃ COO	13	-	-	168.118	167.570
CH ₃ COO	1	-	-	167.405	168.009
CH ₃ COO	4	-	-	170.075	170.368
CH ₃ CH ₂ O		-	1.170	-	15.907
CH ₃ CH ₂ O		-	3.628 qq	-	59.707

The antiproliferative activity of these compounds was studied at 25 µg.ml⁻¹, this dose corresponding to the total inhibition of the cell division (100 %) with Cyn. At this dose, M5F1 and M5F2 totally inhibit division (100 %) while F3 and F4 induced 90 % inhibition; 10, 11 epoxycaulerpenyne was slightly less active (60 %).

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

In our experiments, we have demonstrated the degradation of Cyn in seawater (SW) with the production of by-products inhibiting sea urchin eggs (SUE) division. *Caulerpa taxifolia* is known to produce large amounts of Cyn, especially in summer, and the repellent and antifouling roles of Cyn and its inhibiting effect on sea urchin egg division have been demonstrated. The existence in *C. taxifolia* meadows of a decreasing gradient in Cyn from the alga to the surrounding sea water can be proposed with, as a consequence, a corresponding increasing gradient in by-products whose toxicity may affect the growth of organisms living in the environment of the alga. The impact of these by-products in the growth of planktonic organisms and in the marine food chain remains poorly known.

Several experiments were performed to address this problem: SW filtration with separation by sizes of planktonic organisms were carried out at laboratory or *in situ* and

the results indicated the adsorption of Cyn on planktonic cells, as Cyn does on SUE in antiproliferative screenings, but *in situ*, the amounts of Cyn are too low to be detected using HPLC for 5 to 7 l filtered (AMADE *et al.*, 1998b).

On the other hand, we encountered a large amount of Cyn in the mollusc *Elysia subornata* with more Cyn in the mucus than in the body, the mucus being exhausted when the animal is stressed. This constitute a good illustration of the use of Cyn as repellent agent. We did not find Cyn or by-products in fishes but these preliminary quantifications were realized in the methanolic extracts of few *Symphodus* spp. (6 *S. ocellatus* and 1 *S. rostratus*) so the amounts of extract were too small to conclude on the presence or not of these compounds.

We first produced large amounts of Cyn to test several conditions of degradation and to obtain enough Cyn by-products. In each case, a large variety of compounds appeared and we needed to isolate compounds in sufficient amounts to allow structural and toxicological analysis. During separation, we frequently were confronted with the instability of the compounds purified, i.e. structural modifications during the NMR studies.

Acid or basic conditions gave a large number of compounds and in both cases, the amount of compounds obtained was very low (few mg) with related instability problems. Structural analysis allowed the identification of 4 compounds F1 and its diastereoisomer F2, F3 and its diastereoisomer F4 corresponding to an addition to the Cyn of hydroxyl group in C6 (F1) or C7 (F3), and ethoxy group in C7 (F1) or C6 (F3) (tab. I, fig. 1). Because of the ethoxy adduct, these compounds cannot exist in nature.

LC-MS analysis and NMR studies of the by-products produced in another degradation carried out in water with a dichloromethane extraction allowed the identification of several compounds, always with a higher mass than Cyn: 10,11 epoxycaulerpenyne, caulerpenynol and diastereoisomer. Some aldehydic compounds and more polar compounds produced in this degradation experiment are under investigation. The antiproliferative activity of the by-products identified was confirmed on the sea urchin eggs division. 10,11 epoxycaulerpenyne and caulerpenynol appeared to be easily produced in water degradation conditions suggesting that these compounds, initially purified from the *C. taxifolia* extracts (GUERRIERO *et al.*, 1993), are also by-products of caulerpenyne into the alga.

Acknowledgements: Mass spectroscopy analysis was performed by Mr Jean-Marie GUIGONIS (Laboratoire de Chimie Organique du Fluor de l'Université de Nice-Sophia Antipolis) and Dr. Bernard BANAIGS (Centre de Phytopharmacie de l'Université de Perpignan) carried out 400 MHz NMR studies which are gratefully acknowledged. This work was supported by the ANVAR project A 96 07094U/AT and the CEE DG XI Life program "Control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean sea".

REFERENCES

- AMADE P., LEMÉE R., PESANDO D., VALLS R., MEINESZ A., 1996. Variation de la production de la caulerpénine dans *Caulerpa taxifolia* de Méditerranée. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 223-231.
- AMADE P., LEMÉE R., 1998a. Chemical defences of the Mediterranean alga *Caulerpa taxifolia* : variations in caulerpénine production. *Aquat. Toxicol.* 43 : 287-300.
- AMADE P., JONCHERAY L., BROCCO S., PESANDO D., 1998b. Devenir de la caulerpénine dans le milieu marin : études préliminaires expérimentales et *in situ*. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie Publ., France : 133-142.
- AMICO V., ORIENTE G., PIATTELI M., TRINGALI C., 1978. Caulerpénine, an unusual sesquiterpenoid from the green alga *C. prolifera*. *Tetrahedron Lett.* 38 : 3593-3596.
- BELLAN-SANTINI D., ARNAUD P.M., BELLAN G., VERLAQUE M., 1996. The influence of the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia*, on the biodiversity of the mediterranean marine biota. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 76 : 235-237.
- BIYITI L., PESANDO D., PUISEUX-DAO S., GIRARD J.P., 1990. Effect of antibacterial plant flavanones on the intracellular calcium compartment involved in the first cleavage of sea urchin eggs. *Toxicon* 28 : 275-283.
- DINI F., ROSATI G., ERRA F., VERNI F., PIETRA F., 1994. The environmental toxicity of secondary metabolites produced by the Mediterranean-adapted seaweed *Caulerpa taxifolia* using marine ciliate protists as a model. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 203-207.
- FAULKNER D.J., 1987. Marine Natural Products : Metabolites of marine algae and herbivorous marine molluscs. *Natural Product Reports* 1 : 540-542.
- GAVAGNIN M., MARIN A., CASTELLUCCIO F., VILLANI G., CIMINO G., 1994. Defensive relationships between *Caulerpa prolifera* and its shelled ascoglossan predators. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 175 : 197-210.
- GIANNOTTI A., GHELARDHI E., SENESI S., 1994. Characterization of seawater bacterial communities within environments colonized by the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia*. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 197-201.
- GUERRIERO A., D'AMBROSIO M., GUELLA G., DINI F., PIETRA F., 1992. Isolation of toxic and potentially toxic sesqui- and monoterpenes from tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of Cap Martin and Monaco. *Helv. Chim. Acta* 75 : 689-695.
- GUERRIERO A., MARCHETTI F., D'AMBROSIO M., SENESI S., DINI F., PIETRA F., 1993. New ecotoxicologically and biogenetically relevant terpenes of the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* is invading the Mediterranean. *Helv. Chim. Acta* 76 : 855-864.
- LEMÉE R., PESANDO D., DURAND-CLEMENT M., DUBREUIL A., MEINESZ A., GUERRIERO A., PIETRA F., 1993. Preliminary survey of the toxicity of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced in the Mediterranean. *J. Appl. Phycol.* 5 : 485-493.
- LEMÉE R., SUISSA A., THOMAS M., AMADE P., MEINESZ A., PESANDO D., 1994. Les microalgues: un nouveau modèle pour suivre l'écotoxicité de *Caulerpa taxifolia*. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 209-212.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée Nord-Occidentale. *Oceanol. Acta* 14 (4) : 415-426.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée. Situation au 31 décembre 1996. *Laboratoire Environnement Marin Littoral* publ., Université de Nice-Sophia Antipolis, France : 190 pp.

PAUL V., FENICAL W., 1986. Chemical defense in tropical green algae, order caulerpales. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 34 : 157-169.

PAUL V., FENICAL W., 1987. Natural products chemistry and chemical defense in tropical marine algae of the phylum Chlorophyta. *Bioorganic Marine Chemistry* 1 : 1-29.

PESANDO D., LEMÉE R., DURAND-CLEMENT M., DUBREUIL A., AMADE P., VALLS R., BERHAUD J., PEDROTTI M.L., FENAUX L., GUERRIERO A., PIETRA F., MEINESZ A., 1994. Risques liés à la toxicité de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 265-269.

RAFFAELLI A., PUCCI S., PIETRA F., 1997. Ionspray tandem mass spectrometry for sensitive, rapid determination of minor toxic sesquiterpenoids in the presence of major analogues of the foreign green seaweed *Caulerpa taxifolia* which invading the north-western Mediterranean. *Analytical Com* 34 : 179-182.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanol. Acta* 17 (6) : 659-671.

INFLUENCE OF *CAULERPA TAXIFOLIA* ON ENZYMATIC DETOXIFYING SYSTEM OF THE FISH *SCORPAENA PORCUS*

Roger SANDEAUX¹, Masayuki UCHIMURA¹, Philippe AMADE² & Christian LARROQUE³

¹ Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires, UMR 5635, CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

² Laboratoire de Physiologie et Toxicologie Environnementales, Université de Nice-Sophia Antipolis, Faculté des Sciences, Parc Valrose, 06108 Nice, Cedex 08, France

³ INSERM Unité 128, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier et IGH, CNRS UPR 1142, 141 rue de la Cardonille, 34396 Montpellier, France

ABSTRACT

Caulerpa taxifolia is an alga known to produce some repellent toxic compounds such as caulerpenyne derivatives. In order to study the impact of the alga on the Mediterranean environment, the enzymatic detoxifying system of *Scorpaena porcus*, native Mediterranean fish, was analysed via hepatic cytochrome P450 monooxygenase and glutathione-S-transferase activities. Changes of some metabolites occurred both for fish maintained in aquarium in presence of *C. taxifolia* and those fed with mussels containing *C. taxifolia* homogenates. Complementary experiments, performed on rat liver microsomes with caulerpenyne extracted from Mediterranean specimens of *C. taxifolia*, allowed the identification of this compound as inhibitor of cytochrome P450 activity.

RÉSUMÉ

Caulerpa taxifolia est une algue connue pour sécréter de nombreux terpènes toxiques, tels que la caulerpényne et ses dérivés, possédant un effet répulsif sur les prédateurs. Afin d'étudier l'impact de cette algue sur l'environnement, le système enzymatique de détoxification de poissons méditerranéens, *Scorpaena porcus*, a été analysé en mesurant l'activité d'enzymes hépatiques, les cytochromes P450 monooxygénases et les glutathion S-transférases. Des variations de production de certains métabolites apparaissent aussi bien pour les poissons mis en présence de *Caulerpa taxifolia* en aquarium que pour ceux nourris avec des moules dans lesquelles un broyat d'algue a été injecté. Des expériences complémentaires réalisées sur des microsomes de foie de rat avec de la caulerpényne extraite de la souche de *C. taxifolia* méditerranéenne, ont mis en évidence le rôle inhibiteur joué par la caulerpényne sur l'activité des cytochromes P450.

INTRODUCTION

Caulerpa taxifolia, particularly the Mediterranean-adapted species, is known to contain high amounts of terpenoid compounds having various biological effects (GUERRIERO *et al.*, 1992; LEMÉE *et al.*, 1993, 1997; PAUL *et al.*, 1987). In animals, exogenous molecules must be rapidly transformed and excreted in order to avoid concentration in

the body. This process is of paramount importance for toxic compounds that are inactivated by numerous enzymatic systems in the liver, kidney and skin.

These enzymatic systems are classified as phase I (functionalization) and phase II (conjugation) reactions (JENNER & TESTA, 1978). For the phase I reactions, the cytochrome P450 monooxygenases (P450) catalyze the insertion of an oxygen atom into an organic molecule via the activation of molecular dioxygen leading to aliphatic and aromatic hydroxylations (ORTIZ DE MONTELLANO, 1995). For the phase II reactions, the glutathione S-transferase enzymes (GST) catalyze the nucleophilic attack of glutathione on electrophilic centers in a wide variety of organic molecules, some of them resulting from phase I oxidative metabolism. The P450 and GST dependent activities are checked to evaluate the level of contamination by various pollutants (SLEIDERINK *et al.*, 1995).

In this study, the influence of *Caulerpa taxifolia* on enzymatic detoxifying system of *Scorpaena porcus* Linnaeus 1758 (typically Mediterranean fish) was analysed for two groups of fish. The first group (CL) was caged in aquariums in presence of *C. taxifolia*, the second (FD) fed on mussels containing *C. taxifolia* homogenate. Changes in P450 and GST dependent activities were compared to an untreated group (UT) of fish maintained in similar aquariums. Moreover, in order to confirm the results, caulerpenyne (Cyn), extracted from Mediterranean specimens of *C. taxifolia* according to AMADE *et al.* (1994), was added to the incubation medium consisting of microsomal suspensions of rat livers whose P450 activity has been more widely studied (LARROQUE *et al.*, 1989).

MATERIAL AND METHODS

Alga and fish material

Caulerpa taxifolia was collected near Cap Martin (Alpes Maritimes, France) at 3 m depth. Samples were immediately transported to the laboratory in aerated containers maintained at ambient seawater temperature.

Scorpion fish, *Scorpaena porcus*, caught by fishing net in Cannes (Golfe de La Napoule, France) were 11 to 23 cm length and 20 to 280 g weight. The fish were maintained in aquariums at ambient sea water temperature (17 ± 2 °C). The seawater was sand-filtered and renewed every two weeks. Salinity and pH were 35 ± 1 ‰ and 8.1 ± 0.1 , respectively. The fish were protected from direct light and fed with frozen shrimp and mussels.

The scorpion fish were divided into three groups, each containing 6 or 12 individuals. One group was untreated to serve as control, the second exposed to *Caulerpa taxifolia* in aquarium for four weeks and the third fed with mussels in which 0.3 mL of *C. taxifolia* homogenate was injected.

Preparation of liver subcellular fractions

After removal, the fish livers were weighed and homogenized individually in a mixture of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4), 1 mM EDTA and 0.1 mM dithiothreitol. The homogenates were centrifuged at 9000 g for 20 min. The resulting pellets were resuspended in the same buffer and centrifuged again at 9000 g for 20 min. The supernatants were pooled and centrifuged at 105000 g for 1 h at 4 °C. The pellets, mainly constituted of microsomes, were resuspended in 1 mL of the previous mixture containing 20 % glycerol. The microsome suspension as well as the supernatants resulting from the centrifugation at 105.000 g were sampled and stored at -80 °C. The P450 and GST activity was determined in the microsomal and cytosolic fraction, respectively.

Biochemical assays

The microsomal P450 activity was tested using ¹⁴C-(4)-progesterone and ¹⁴C-(4)-testosterone as substrates as previously described (LARROQUE *et al.*, 1989). The microsomal suspension and substrate concentration were adjusted to 1 mg protein per mL and 100 µM, respectively. The reaction was initiated by addition of 1 mM NADPH. After incubation (30 min, 25 °C), the steroidal products (metabolites and remaining substrate) were extracted by 2 mL of dichloromethane. The organic phase was recovered, concentrated and spotted onto a Merck 60F254 TLC plate. The plates were developed and subjected to autoradiography. Visualized metabolites were numbered according to their polarity and quantitative analysis was performed by labelled isotope counting (Packard 1900). The TLC plates were also analysed with a phosphor-imager system 445Si (Molecular Dynamics).

The GST activity was determined with CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) as substrate (HABIG *et al.*, 1974). The quantitative analysis was done by spectrophotometry (Uvikon 931, Kontron).

Microsomal and cytosolic protein concentrations were measured using the BCA protein assay reagent (Pierce) with bovine serum albumin (BSA) as standard. The BSA concentrations ranged from 0 to 1 mg.mL⁻¹. 2 mL of BCA reagent were added to 100 µL BSA solution. After 30 min incubation at 37 °C, the absorbance of solutions was measured at 562 nm.

RESULTS

Figures 1a-1b show the metabolite production for the three groups of fish, using progesterone and testosterone as substrate, respectively. Among the nine metabolites produced, the metabolites 7, 8 and 9 were affected for the fish treated with *Caulerpa taxifolia* in comparison to those for the untreated fish. In figure 1a, significant increase and decrease in the production of metabolite 7 and 9, respectively, were observed. In figure 1b, the amount of metabolite 8 decreased while that of metabolite 9 increased compared to untreated fish.

In liver microsomes, the metabolism of steroids could be mediated by two classes of enzymes, the oxido-reductases and cytochrome P450 systems. In order to identify the system responsible for metabolite production, similar experiments were performed with carbon monoxide (12.5 %) generally used as P450 inhibitor (OMURA & SATO, 1964). Unequivocal results were obtained (fig. 2) and we can conclude that the metabolite production is P450 dependent.

The GST activity was determined in the liver cytosol for the same fish populations (tab. 1). Despite the variability of the results, an increase in the GST activity occurred when the alga is present in aquariums and fish fed with *C. taxifolia* contaminated mussels.

Table 1. Glutathione S-transferase activity in fish liver cytosols. UT: untreated fish; FD: fish fed with *Caulerpa taxifolia* contaminated mussels; CL: fish in the presence of *C. taxifolia* for four weeks.

Scorpion fish	UT (12 individuals)	FD (6 individuals)	CL (6 individuals)
GST activity ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$)	1.63 (1.46 to 2.05)	1.79 (1.41 to 2.02)	2.79 (1.75 to 4.15)

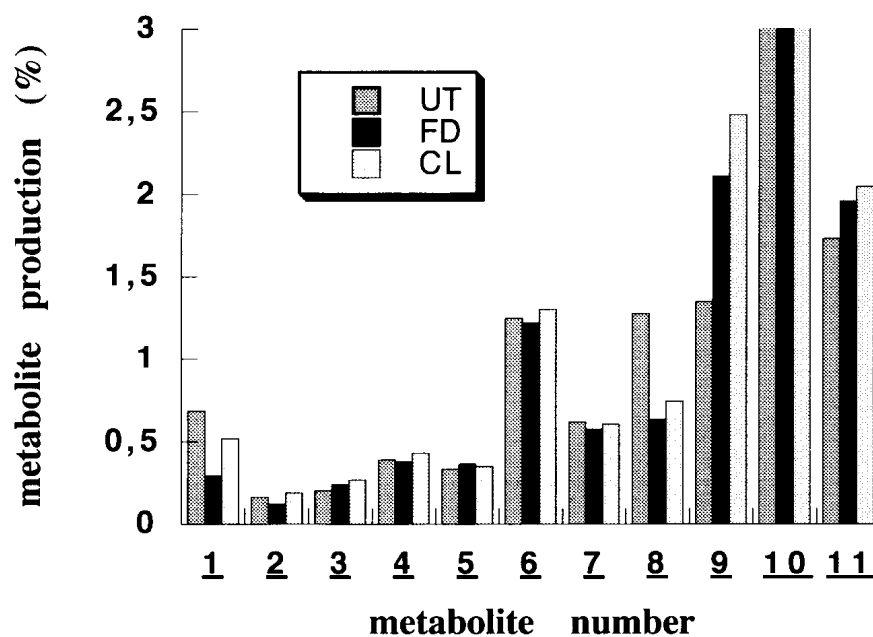
Subsequently, the effects of authentic caulerpenyne, extracted from *Caulerpa taxifolia* collected in the Mediterranean sea, were investigated on microsomes of rat livers by adding caulerpenyne to the incubation medium containing progesterone and NaDPH. Figure 3 shows that the residual activity of progesterone hydroxylase in rat liver microsomes is inhibited when caulerpenyne is added at a concentration of 0.5 mM. One can conclude that the previous effects observed on the metabolism of fish livers, were induced by *C. taxifolia* toxins, caulerpenyne being the most abundant of them.

CONCLUSIONS

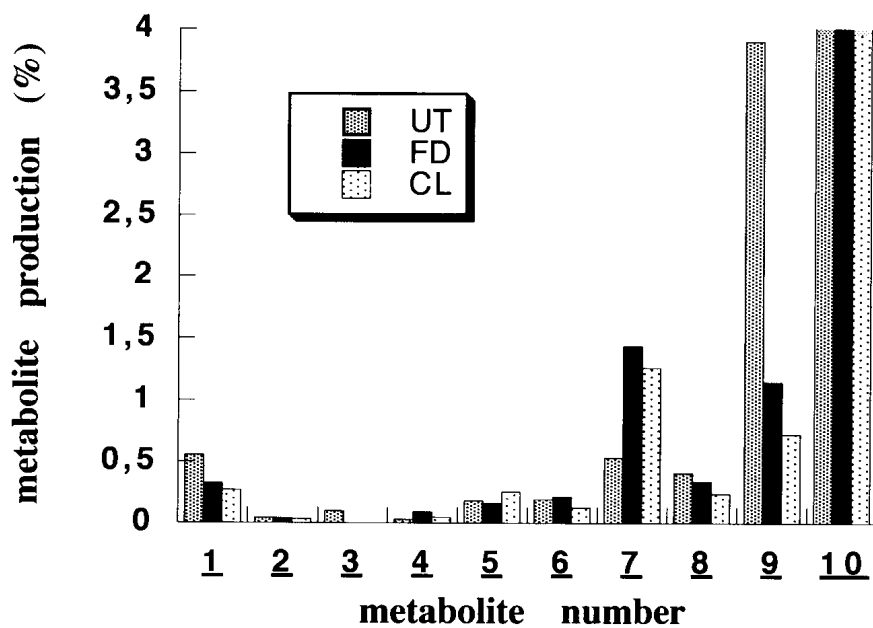
The results of this work showed the influence of *Caulerpa taxifolia* metabolites on P450 and GST activity determined in microsomes and cytosols, respectively, of Scorpion fish livers. On the one hand, the P450 activity was inhibited for fish fed with mussels treated by *Caulerpa taxifolia* homogenates or maintained in presence of *Caulerpa taxifolia*. On the other hand, induction in the GST activity was observed for the treated fish. The impact of caulerpenyne on P450 activity was clearly identified by complementary experiments performed on rat liver microsomes.

REFERENCES

- AMADE P., VALLS R., BOUAICHA N., LEMÉE R., ARTAUD J., 1994. Méthodes de dosage de la caulerpénine produite par *Caulerpa taxifolia*. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 355-364.
- GUERRIERO A., MEINESZ A., D'AMBROSIO M., PIETRA F., 1992. Isolation of toxic and potentially toxic sesqui- and monoterpenes from the tropical green seaweed *Caulerpa taxifolia* which has invaded the region of Cap Martin and Monaco. *Helvet. Chim. Acta* 75 : 689-695.



1a



1b

Figure 1. Metabolite production of fish liver microsomes using progesterone and testosterone as substrates. UT: untreated fish; FD: fish fed with *Caulerpa taxifolia* contaminated mussels; CL: fish in the presence of *C. taxifolia* for four weeks.

1a: Product 10 corresponds to the excess of progesterone substrate;

1b: Product 10 corresponds to the excess of testosterone substrate. Product 11 was identified to androstenedione.

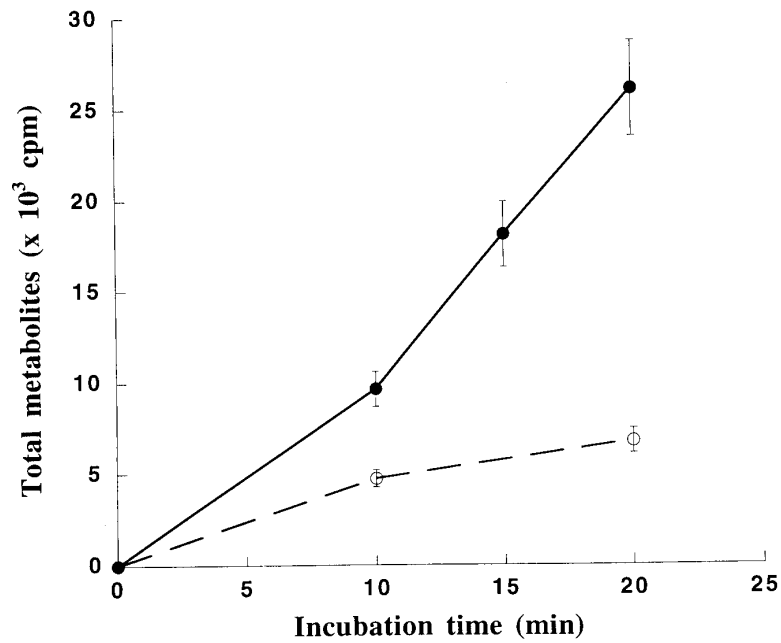


Figure 2. Total progesterone hydroxylase activity in fish liver microsomes with (open circles) and without (closed circles) carbon monoxide.

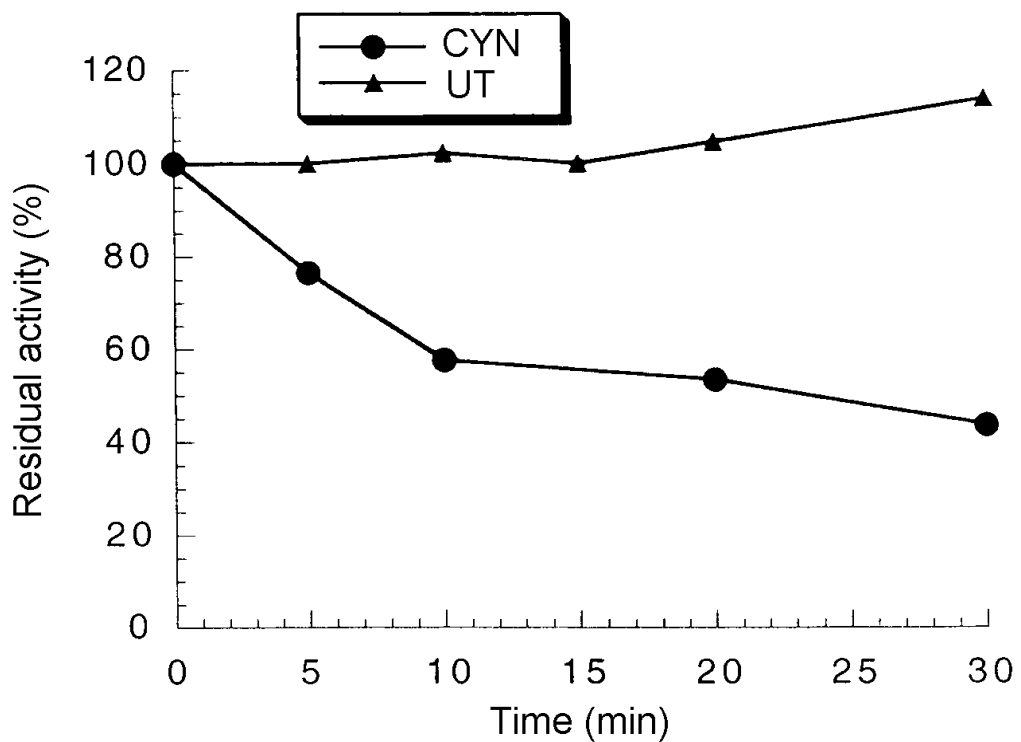


Figure 3. Residual activity of progesterone hydroxylase in rat liver microsomes with and without caulerpenyne.

HABIG W.H., PABIST M.J., JAKOBY W.B., 1974. Glutathione S-Transferases. *J. Biol. Chem.* 249 (22) : 7130-7139.

JENNER P., TESTA B., 1978. Novel pathway in drug metabolism. *Xenobiotica* 8 : 1-25.

LARROQUE C., LANGE R., MAUREL P., VAN LIER J.E., 1989. Rat liver microsome progesterone metabolism : evidence for differential TAO and pregnenolone 16 α carbonitrile induction effect in the cytochrome P450 3 family. *J. Steroid Biochem.* 33 : 277-286.

LEMÉE R., PESANDO D., DURAND-CLEMENT M., DUBREUIL A., MEINESZ A., GUERRIERO A., PIETRA F., 1993. Preliminary survey of toxicity of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced into the Mediterranean. *J. Appl. Phycol.* 5 : 485-493.

LEMÉE R., PESANDO D., ISSANCHOU C., AMADE P., 1997. Microalgae : a model to investigate the ecotoxicity of the green alga *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean sea. *Mar. Environ. Res.* 44 (1) : 13-25.

OMURA T., SATO R., 1964. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. I Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* 239 (7) : 2370-2378.

ORTIZ DE MONTELLANO P.R., 1995. Oxygen activation and reactivity. *Plenum Press*, New York and London : 245-303.

PAUL V.J., LITTLER M.M., LITTLER D.S., FENICAL W., 1987. Evidence for chemical defence in tropical green alga *Caulerpa ashmeadii* (Caulerpaceae : Chlorophyta) : isolation of new bioactive sesquiterpenoids. *J. Chem. Ecol.* 13 (5) : 1171-1185.

SLEIDERINK H.M., OOSTINGH I., GOKSOYR A., BOON J.P., 1995. Sensitivity of cytochrome P450 1A induction in dab (*Limanda limanda*) of different age and sex as a biomarker for environmental contaminants in the Southern North Sea. *Arch. Environ. Contam. Toxicol* 28 : 423-430.

IMPACT ÉCOLOGIQUE DE *CAULERPA TAXIFOLIA* SUR LE DÉVELOPPEMENT ET LA CROISSANCE DE *CYSTOSEIRA BARBATA* (PHAEOPHYCEAE, FUCALES)

S. ROLLINO¹, M. KNOEPFFLER PEGUY¹ & A. GRÉMARE²

¹ 10025 Pino Torese (To), Italie

² UPMC, Laboratoire Arago, 66650 Banyuls-sur-Mer

Mots clés : *Caulerpa*, *Cystoseira*, Méditerranée, développement

RÉSUMÉ

L'impact de *Caulerpa taxifolia* sur la croissance d'embryons de *Cystoseira barbata* (Phaeophyceae, Fucales) de l'étang de Salses-Leucate a été étudié en été 1998 avec une souche de *C. taxifolia* récoltée dans la Lagune du Bruscat (île des Embiez). Les mesures réalisées sur les embryons ont été faites à partir d'un analyseur d'image. L'analyse statistique portant sur plusieurs dizaines d'individus en présence ou en absence de *C. taxifolia* et en position haute (éclairée) ou basse (fond des aquariums) montre que les embryons placés sous et au milieu de la masse de caulerpe présentent un très net retard de croissance par rapport aux individus situés en surface et plus encore par rapport aux témoins. De plus, en présence de *C. taxifolia*, les embryons ont tendance à conserver la forme plus ou moins sphérique des zygotes au lieu de s'étirer en longueur comme les plantules témoins. L'action de *C. taxifolia* est nettement liée à l'interception de la lumière dont dépendent étroitement la croissance et le développement des embryons, donc du recrutement des *Cystoseira barbata*, espèces particulièrement photophiles. Cependant, des différences significatives de croissance en position superficielle, donc avec le même apport d'énergie lumineuse, suggèrent que ce mécanisme ne soit pas seul en jeu.

INTRODUCTION

Généralement très compétitives, les espèces exotiques invasives telles que *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh ou *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt, menacent particulièrement les macrophytes photophiles du littoral méditerranéen lorsqu'elles colonisent les mêmes biotopes (BOUDOURESQUE *et al.*, 1995 ; BOUDOURESQUE, 1996). Leurs principales victimes sont, sans conteste, les espèces du genre *Cystoseira* C. Agardh qui constituent des peuplements souvent importants en biomasse (MUNDA, 1972) et forment de véritables petits écosystèmes abritant une multitude d'organismes animaux et végétaux.

Outre son intérêt écologique, l'espèce *Cystoseira barbata* (Goodenough & Woodward) C. Agardh, plante pérennante à rameaux caducs, est intéressante à plus d'un titre. Sa richesse en alginate (DECHEVA & KHARDALOV, 1970 ; MICHANEK, 1975 ; PELLEGRINI & PELLEGRINI, 1972) en stérols, diterpènes et dérivés terpéniques phénoliques particuliers (FRANCISCO, 1970) lui confèrent une valeur utilitaire certaine. Sa phénologie (DODEL-PORT, 1885 ; SAUVAGEAU, 1912, 1920), la

rapidité de la croissance de ses rameaux (ŠPAN, 1969 ; KNOEPFFLER-PEGUY & GROS, 1988), son mode de reproduction, le volume important de ses zygotes et son développement embryonnaire (GUERN, 1961, 1963 ; FUCHS & KNOEPFFLER-PEGUY, 1984 ; MOTTA *et al.*, 1988) en font un matériel expérimental de choix. Ses facultés d'adaptation aux variations du milieu environnant sont grandes et lui permettent de vivre aussi bien en mode semi-battu qu'en mode très calme, dans des zones fortement eutrophisées. Cette espèce est donc relativement facile à cultiver, mais elle est exigeante en matière d'éclairage. Dans l'étang de Thau (Hérault, France) son recrutement est en effet totalement inhibé par la densité de la canopée de *Sargassum muticum* (espèce japonaise accidentellement introduite avec le naissain importé de l'huître *Crassostrea gigas*) au moment de sa reproduction (GERBAL *et al.*, 1985). C'est l'une des raisons pour laquelle elle a pratiquement disparu de ce site.

Dans la nature, il semblerait que *Caulerpa taxifolia* produise le même effet. Les zygotes de *Cystoseira barbata* et *C. mediterranea* ont déjà servi de modèles pour des bio-tests (NORTH & JAMES, 1987). De précédentes expériences destinées à tester les effets de *C. taxifolia* et de ses extraits méthanoliques de *Cystoseira barbata* (FERRER *et al.*, 1995, 1996) étaient de courte durée (4 à 5 jours). Il nous a donc paru judicieux de poursuivre ces études sur une plus longue période (4 à 5 semaines) et de compléter ces recherches par l'étude du développement des embryons en présence de la Caulerpale *in toto*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Récolte et préparation du matériel biologique

Les individus de *Cystoseira barbata* ont été récoltés le 22 juin 1998 dans l'anse du Paurel, au nord de l'étang de Salses-Leucate (Aude, France), à une profondeur comprise entre 30 et 50 cm. La température de l'eau était alors de 25 °C. Ces spécimens ont été immédiatement transportés à l'Institut Océanographique Paul Ricard de l'île des Embiez (Var, France), en containers isothermes. Après avoir été rapidement brossés, rincés à l'eau de mer, ils ont ensuite été entreposés au réfrigérateur (4 °C), à sec et à l'obscurité pendant 24 h.

La fécondation et la ponte ont été déclenchées le 24 juin 1998 par les chocs thermiques et lumineux provoqués par le retour à un fort éclairage et à une température plus élevée. Les pontes ainsi produites ont été recueillies sur des lames porte-objet stériles disposées obliquement dans des pondoirs à poissons, eux même placés en circuit ouvert et aéré. La position des lames permet de séparer les zygotes qui adhèrent au verre grâce à leur membrane de fécondation gélatineuse, d'éléments plus lourds tels que diatomées, ou détritiques divers. Deux jours plus tard, les embryons bien visibles, adhèrent au substrat et sont déjà segmentés ; les 4 rhizoïdes primaires se sont formés et ont commencé à s'allonger.

Caulerpa taxifolia a été prélevée le 18 juin 1998 dans la lagune du Bruscat (Z = 50 cm, T = 20 °C) qui sépare l'île des Embiez du continent (MEINESZ *et al.*, 1997 ; VICENTE *et al.*, 1993). Après plusieurs rinçages successifs destinés à éliminer la vase et les

quelques épiphytes présents, la plante a été rapidement essorée et pesée (910 g de poids humide égoutté, ± 5 g) avant d'être placée dans l'un des 2 aquariums destinés aux expériences.

Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental consistait en deux aquariums de 80 l (contenant 45 l d'eau de mer de la lagune, filtrée) placés côte à côte ; l'un a reçu la caulerpe (*cf. ci-dessus*) tandis que l'autre servait de témoin. Ces deux aquariums étaient éclairés par une même source lumineuse constituée par 2 tubes de Néon générant une irradiance de $30 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Cette valeur a été retenue car elle représentait un bon compromis entre les exigences de croissance de *Caulerpa taxifolia* et de *Cystoseira barbata* et l'impératif d'éviter une trop forte élévation de température. La salinité et la température dans les bacs expérimentaux ont été contrôlées de manière à ce que leurs évolutions temporelles soient semblables à celles de la lagune du Brusac (fig. 1). Le dosage des sels nutritifs a révélé des valeurs très faibles (i.e. comprises entre 0.00 et $0.15 \text{ atg} \cdot \text{l}^{-1}$).

Ce n'est que le 26 juin que les 32 lames supportant les embryons de *Cystoseira barbata* ont été placées en conditions expérimentales, de manière à laisser aux organismes le temps de bien se fixer. Elles ont alors été réparties en 4 lots égaux de la manière suivante : 8 lames ont été placées au fond et 8 lames en surface de l'aquarium contenant la caulerpe. De même, 8 lames ont été positionnées au fond et 8 lames en surface de l'aquarium témoin. En pratique, chacune des lames était placée dans une boîte perforée de type "Vibert", elle-même contenue dans un pondoir à poissons, permettant la circulation de l'eau et le maintien dans le bon positionnement. Lors des dates d'échantillonnage, quinze embryons étaient prélevés sur chacune des 4 lames correspondant aux différents traitements (i.e. présence ou absence de *Caulerpa taxifolia* et position haute ou basse). Les lames étaient immédiatement replacées dans leur bac et dans leur position d'origine tandis que les embryons prélevés étaient fixés à l'eau de mer formolée pour être ultérieurement dessinés et mesurés.

Ce plan expérimental permettait d'étudier à la fois les effets de la date d'échantillonnage, de la présence de *C. taxifolia* et de la position (donc indirectement de l'éclairage) sur le développement des embryons de *C. barbata*. L'impossibilité de répliquer les bacs expérimentaux complique cependant l'analyse des effets liés à la présence de *C. taxifolia*.

L'expérience a débuté le 24 juin et s'est achevée le 26 juillet 1998. Les prélèvements ont été réalisés le premier jour, puis après 2, 3, 8, 13, 17, 22, 27 et 32 jours. Tous les embryons recueillis ont été dessinés (tube à dessiner, obj. X10) et pour certains photographiés (fig. 2). Les dessins ainsi obtenus ont été digitalisés au scanner à plat (264 niveaux de gris, 200 DPI). Les surfaces des embryons (hors rhizoïdes) ont ensuite été noircies sur les fichiers ainsi obtenus (Logiciel CANVAS). Cette opération a facilité les mesures biométriques ensuite réalisées grâce au logiciel MOCHA (Jeandel Scientific). Ce logiciel a été employé en mode semi-automatique ce qui a permis d'obtenir des mesures simultanées de l'axe majeur, du périmètre, de la surface et d'un "facteur forme" de chaque embryon. Le dernier paramètre permet de distinguer les formes plus allongées qui traduisent la croissance ("facteur forme" < 0.1), des formes

plus sphériques (“facteur forme” > 0.1) caractéristiques du zygote et des premiers stades de développement.

Les relations entre les différents paramètres biométriques ont été étudiées à partir de modèles de régression simples. Les effets des différents facteurs testés sur le développement des embryons de *C. barbata* ont été évalués à l’aide d’analyses de variance à 3 facteurs contrôlés (date de prélèvement, présence de caulerpe et position). Les mesures effectuées le premier jour sur les individus qui n’avaient pas encore été mis en expérience n’ont pas été incluses dans les analyses de variance, ceci afin de conserver un plan expérimental équilibré. L’ensemble du traitement statistique a été réalisé grâce au logiciel STATISTICA.

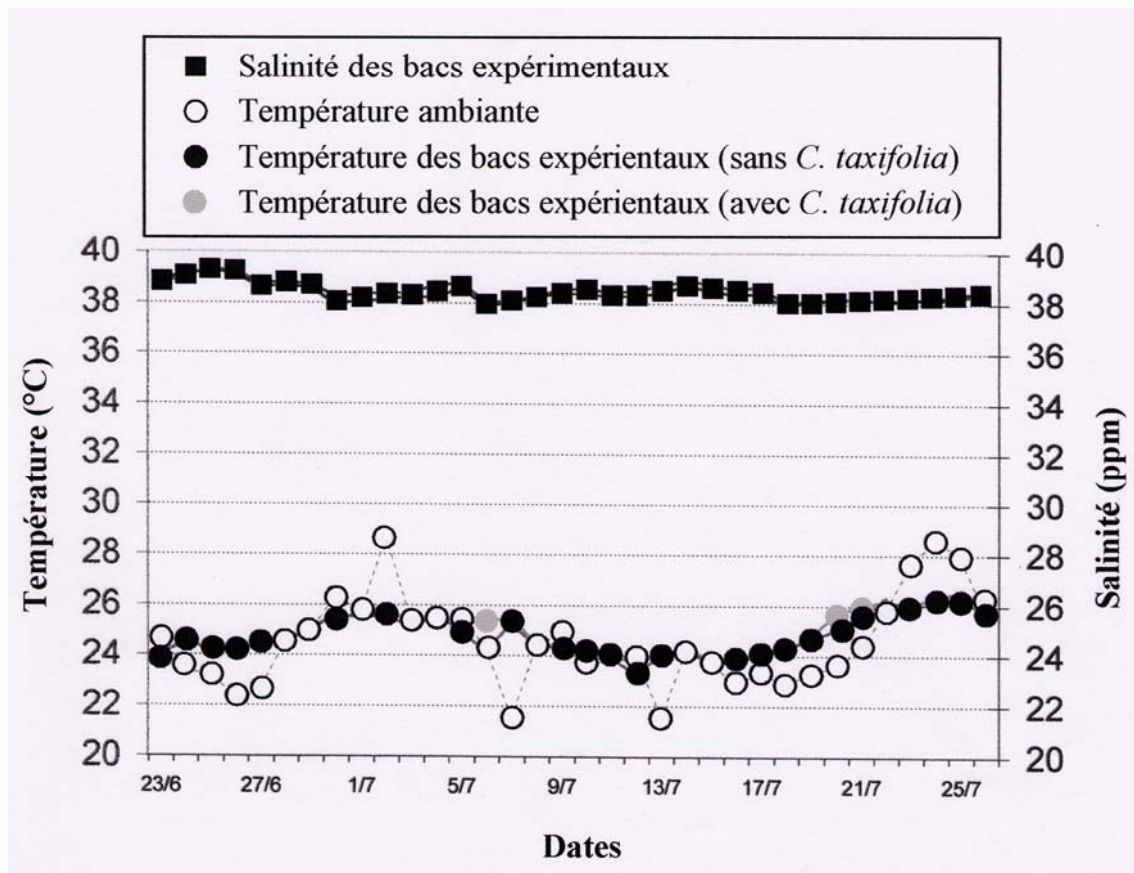


Figure 1. Variations temporelles de la température et de la salinité dans les bacs expérimentaux. L'évolution temporelle de la température dans la lagune du Brusuc est également présentée à des fins de comparaison.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des exemples de relations liant les différents indices biométriques de la totalité des 1672 embryons mesurés lors de la présente étude sont présentés à la Figure 3. A l'évidence, il existe une très forte corrélation entre les mesures de l'axe majeur, du périmètre et de la surface des embryons. Un modèle de régression linéaire utilisant l'axe majeur comme variable indépendante permet ainsi de décrire 97.3 % de la variance des

surfaces des embryons. De même le coefficient de détermination du modèle de régression de type puissance reliant les mesures de l'axe majeur et de la surface des embryons est supérieur à 0.98. La corrélation entre les mesures de l'axe majeur et du "facteur forme" est moins bonne tout en demeurant significative. Ce résultat traduit : (1) le fait que ces deux paramètres correspondent à des variables différentes (i.e. la taille et la forme des embryons), et (2) l'existence d'une certaine élongation des embryons lors de leur développement. Au vu de ces résultats, nous avons décidé de ne retenir que la surface et le "facteur forme" en tant que base biométrique de l'effet de la présence de *Caulerpa taxifolia* sur le développement des embryons de *Cystoseira barbata*.

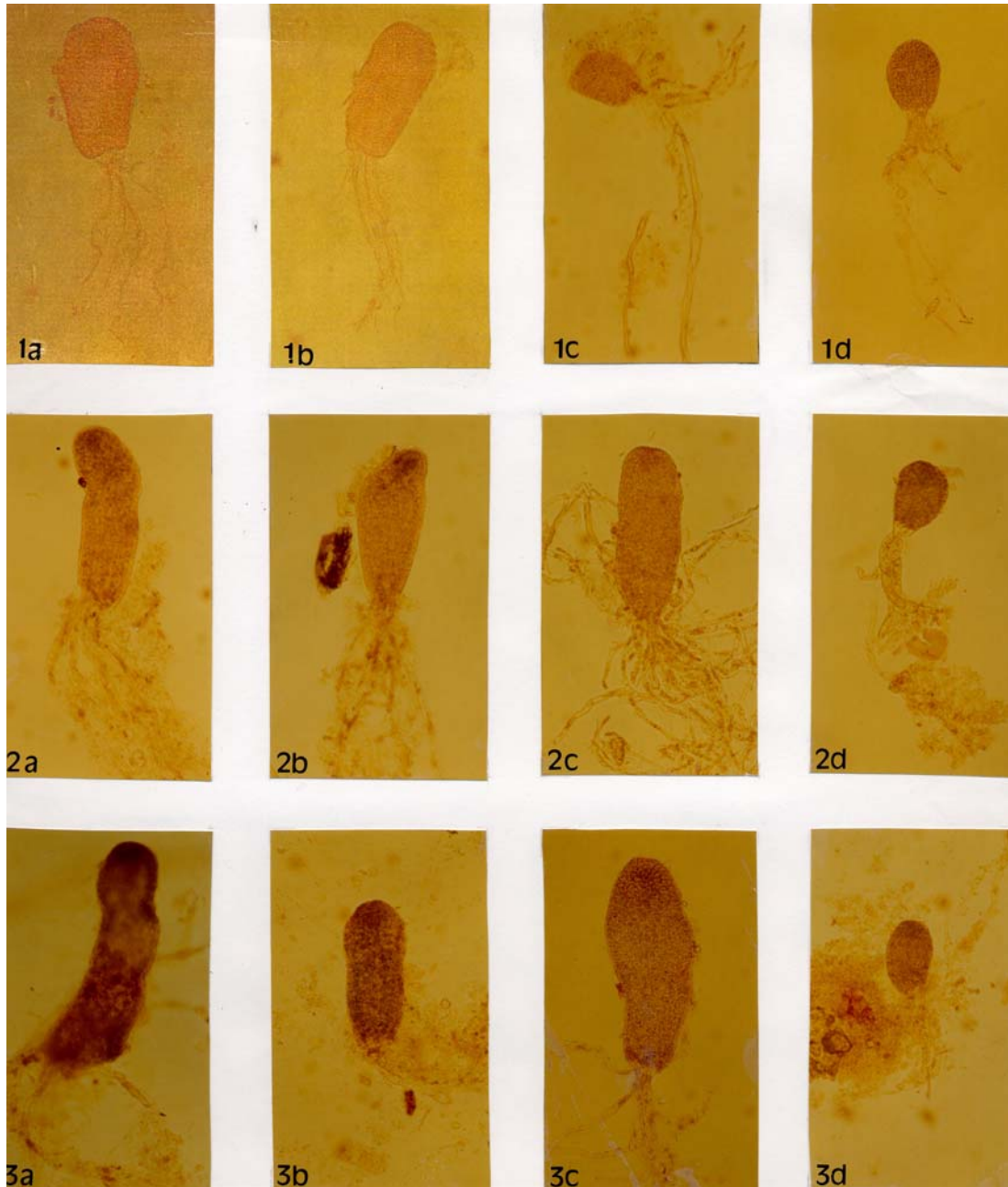


Figure 2. Croissance et développement des embryons de *Cystoseira barbata* en présence et en l'absence de *Caulerpa taxifolia* : âge des embryons (1 = 10 j ; 2 = 20 j ; 3 = 30 j). Position (a = en surface sans *Caulerpa* ; b = en surface avec *Caulerpa* ; c = au fond avec *Caulerpa* ; d = au fond sans *Caulerpa*).

Pour chacune des dates d'échantillonnage, et pour chacun des traitements expérimentaux, les valeurs moyennes de ces deux paramètres sont présentées en Figure 4. Les résultats des analyses de variance correspondantes sont donnés dans les Tables I et II pour la surface et le "facteur forme", respectivement. Ces deux paramètres sont significativement affectés par la date d'échantillonnage, par la présence de *C. taxifolia* ainsi que par le positionnement des embryons dans les aquariums d'étude. Les interactions entre ces paramètres sont également toujours significatives ce qui traduit la non-additivité des effets de ces trois facteurs.

Tableau I. Résultats de l'analyse de variance à 3 facteurs contrôlés mettant en évidence l'effet de la date d'échantillonnage, de la présence de *Caulerpa taxifolia* et de la position dans les bacs expérimentaux sur la surface des embryons de *Cystoseira barbata*.

Facteur	ddl (facteur)	CM (facteur)	ddl (erreur)	CM (erreur)	F	p
Date (D)	7	0.304 10 ¹¹	1607	0.527 10 ⁸	531.052	< 0.0001
<i>Caulerpa taxifolia</i> (C)	1	0.470 10 ¹¹	1607	0.527 10 ⁸	821.350	< 0.0001
Position (P)	1	0.293 10 ¹¹	1607	0.527 10 ⁸	511.930	< 0.0001
D*C	7	0.621 10 ¹⁰	1607	0.527 10 ⁸	108.567	< 0.0001
D*P	7	0.256 10 ¹⁰	1607	0.527 10 ⁸	44.726	< 0.0001
C*P	1	0.835 10 ¹⁰	1607	0.527 10 ⁸	145.997	< 0.0001
D*C*P	7	0.101 10 ¹⁰	1607	0.527 10 ⁸	17.601	< 0.0001

L'effet temporel indique l'existence d'une croissance effective des embryons pendant l'expérience. Leur surface moyenne est globalement passée de 8000 à plus de 55000 μm^2 pour les embryons soumis aux conditions les plus favorables. Par simple intégration, les différences entre traitements tendent à s'accroître avec la durée de l'expérience.

Si l'on se limite à la seule dernière date d'échantillonnage, on constate que la présence de la caulerpe a exercé un effet négatif sur la surface des embryons (pour les lames en position haute, les moyennes respectives sont ainsi de 42561 μm^2 en présence de *C. taxifolia* contre 54939 μm^2 dans le bac témoin). La présence de *C. taxifolia* engendre un effet encore plus marqué pour les lames placées en position basse (valeur moyenne de 11866 μm^2 en présence de la caulerpe contre 54958 μm^2 dans le bac témoin). Ces résultats suggèrent par ailleurs l'absence de tout effet lié au positionnement des lames dans les bacs témoins. Les mêmes observations peuvent être formulées pour le "facteur forme". Simplement dans ce cas, les valeurs obtenues sont positivement affectées par la présence de la caulerpe et par le positionnement au fond de l'aquarium la contenant. Ceci traduit la réduction de l'allongement des embryons dans ces conditions expérimentales.

A notre connaissance il n'existe aucune donnée sur le développement *in situ* des embryons de ces plantes. Nos essais de culture *in situ* à partir de zygotes se sont révélés des échecs pour diverses raisons comme la curiosité des touristes ou les tempêtes. Il est donc difficile de dire si la croissance observée dans le cadre de nos expériences concorde avec le développement naturel en temps et en taille. Cependant, que ce soit en présence ou en l'absence de *C. taxifolia*, il y a bien eu croissance des embryons.

Les différences engendrées par la position confirment s'il en était besoin l'importance de l'apport lumineux pour les *Cystoseira* de surface et tout particulièrement pour l'espèce *C. barbata*. L'action de *Caulerpa taxifolia* en tant que compétiteur pour l'énergie lumineuse est encore plus marquée. Il y a un réel retard de développement aussi bien au niveau du corps même de l'embryon qu'au niveau des rhizoïdes comme l'avaient observé FERRER *et al.*, (1996). Des résultats exprimés plus haut, il ressort aussi que l'effet *Caulerpa* existe par lui-même. Il pourrait s'agir d'une compétition pour les nutriments (c'est le cas dans la nature pour les Posidonies et d'autres organismes), car l'eau utilisée pour les expériences dans les 2 bacs s'est révélée très pauvre dès l'origine. Par contre, si l'on se réfère à la figure 1, il apparaît que la température de l'eau entre le 25 juin et le 26 juillet oscillait entre 23 et 25 °. Or c'est à ce degré de température et à cette époque que la concentration de caulerpényne et des autres terpénoïdes est au maximum chez *Caulerpa taxifolia*. Le taux avoisine 0.16 % DW (AMADE *et al.*, 1996 ; LEMÉE, 1996). Peut-on, pour autant incriminer la présence de ces toxines, sachant que la caulerpényne en particulier se dégrade très rapidement dans l'eau (LEMÉE, 1996) ? Il serait à notre avis présomptueux de l'affirmer.

Une chose est cependant certaine, la présence de *Caulerpa taxifolia* exerce une influence négative sur le développement des embryons et l'allongement des plantules. Son action est, pour une grande part, nettement liée à l'interception de la lumière dont dépendent la croissance et le développement de *Cystoseira barbata* en conditions naturelles ou expérimentales. Il est clair que un ou plusieurs autres mécanismes entrent en jeu mais les conditions de l'expérience ne permettent pas de les discerner.

Cystoseira barbata s'est révélé être un bon matériel expérimental. Cette espèce devrait permettre d'avancer dans la connaissance des mécanismes de l'action de *Caulerpa taxifolia* sur les macrophytes.

Remerciements : Nous tenons à remercier Henri BOUTIERE pour ses connaissances de l'étang de Salses-Leucate, le Professeur Nardo VICENTE pour son aide sur le terrain et, tout particulièrement, le Professeur Y. MARTIN, Directeur de l'Institut Océanographique Paul Ricard, aux Embiez, qui nous a accueilli ainsi que tout le personnel qui nous aidés et facilité le travail.

BIBLIOGRAPHIE

AMADE P., LEMÉE R., PESANDO D., VALLS R., MEINESZ A., 1996. Variation de la production de Caulerpényne dans *Caulerpa taxifolia* de Méditerranée. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez Garreta A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona publ., Spain : 223-232.

BOUDOURESQUE C.F., 1996. Impact de l'homme et conservation du milieu marin en Méditerranée. 2^o édition. GIS Posidonie Publ., Marseille, France : 243 pp.

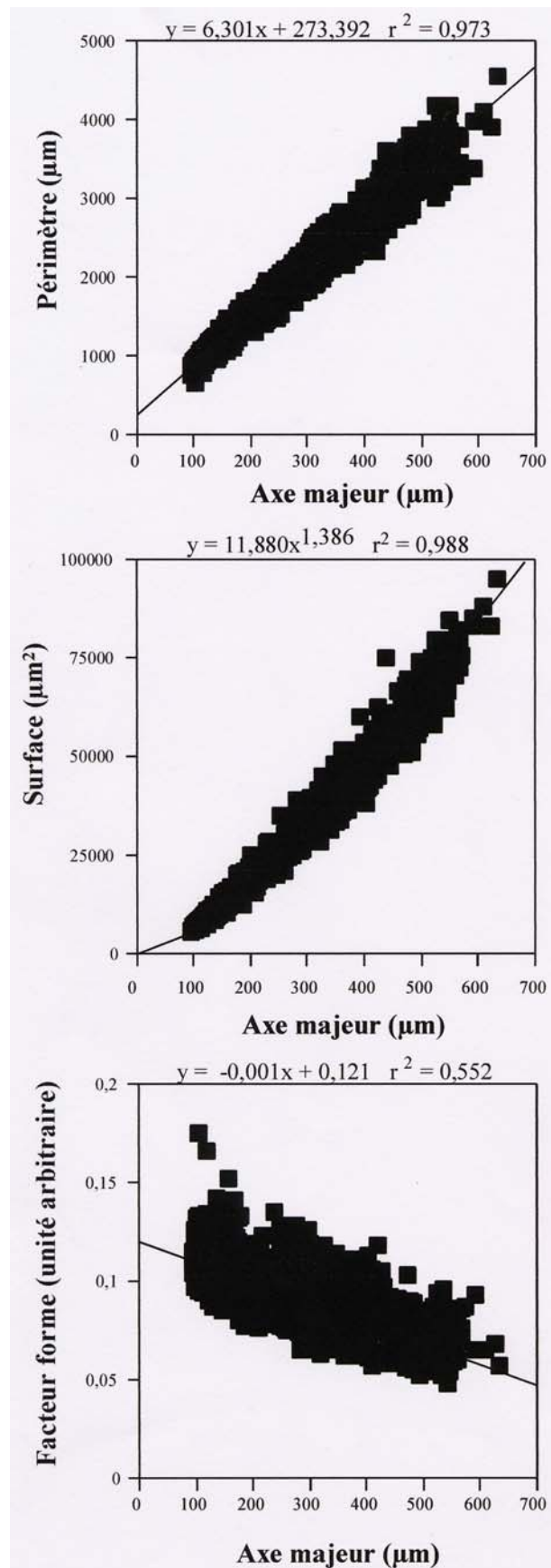


Figure 3. Relations biométriques obtenues pour l'ensemble des embryons de *Cystoseira barbata* mesurés.

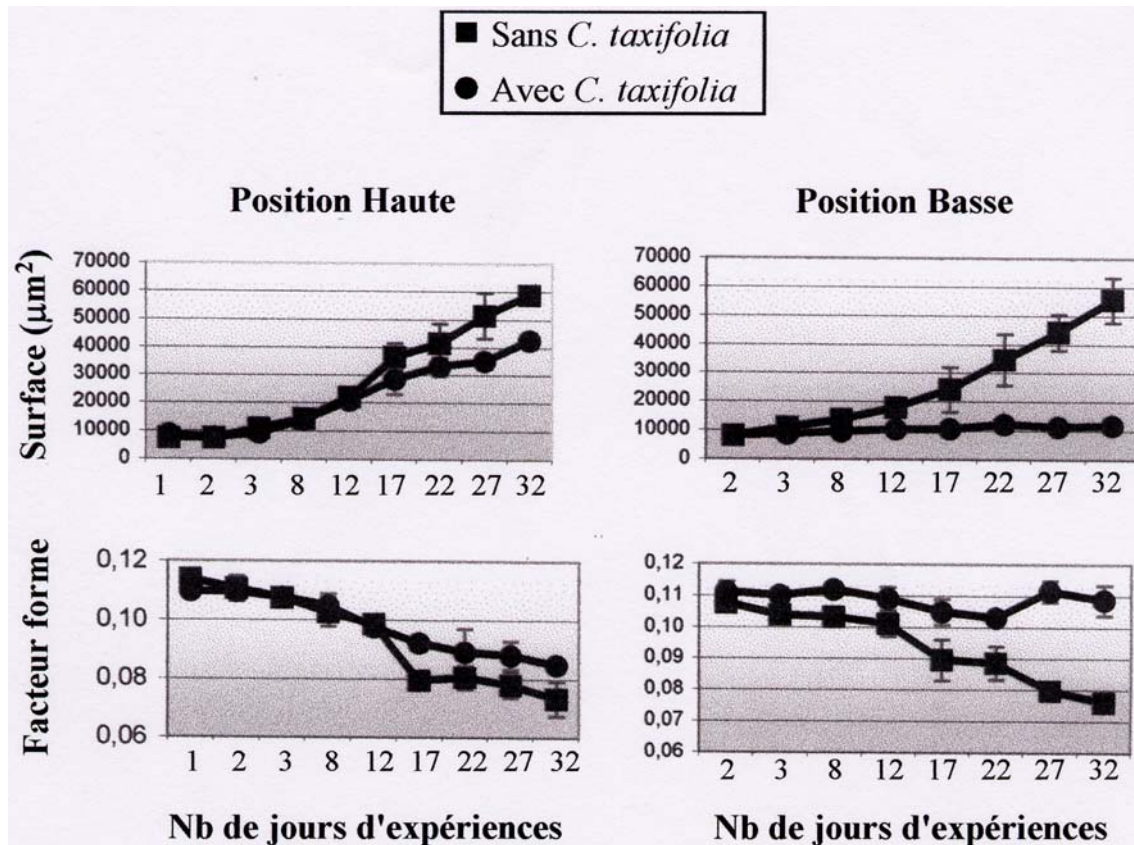


Figure 4.: Evolutions temporelles des valeurs moyennes de la surface et du "facteur forme" des embryons de *Cystoseira barbata* exposés à chacun des traitements expérimentaux (présence de *Caulerpa taxifolia* et position dans les bacs). Les barres verticales correspondent aux écarts-type.

BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., RIBERA M.A., BALLESTEROS E., 1995. Spread of the green alga *Caulerpa taxifolia* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean: possible consequences of a major ecological event. *Scientia Marina* 59 (Supl. 1) : 21-29.

DECHEVA R., KHARDALOV I., 1970. Properties and uses of sodium alginate obtained from the Bulgarian alga *Cystoseira barbata* in the textile industry. *Khim Ind.*(Sofia, Bulgarie) 3 : 111-117.

DODEL-PORT A., 1885. Biologische Fragmente. I. *Cystoseira barbata*. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Fucaceen. Cassel.

FERRER E., GOMEZ GARRETA A., RIBERA M.A., 1995. Effet de *Caulerpa taxifolia* sur la productivité de deux macrophytes méditerranéennes. *Rapp. P.V. Réun. Comm. Int. Mer Médit.* 34 : 28.

FERRER E., GOMEZ GARRETA A., RIBERA M.A., 1996. Effect of *Caulerpa taxifolia* on two Mediterranean macrophytes. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez Garreta A. et Gravez V. eds, Universitat Barcelona publ., Spain : 271-276.

FRANCISCO C., 1970. Contribution à l'étude chimique des constituants d'Algues brunes du genre *Cystoseira*. Thèse 3^e cycle. Perpignan, France : 106 pp.

FUCHS A., KNOEPFFLER-PEGUY M., 1984. Etude préliminaire de l'influence des eaux d'un élevage piscicole sur la germination et le développement d'embryons de *Cystoseira barbata* (Phaeophyceae Fucales). Actes du Second Colloque, Association Française d'Algologie Appliquée : 29-41.

GERBAL M., BEN MAIZ N., BOUDOURESQUE C.F., 1985. Les peuplements à *Sargassum muticum* de l'étang de Thau : données préliminaires sur la flore algale. *Congr. Nat.Soc. Sav.*, France 110 (2) : 241-254.

GUERN M., 1961. Embryologie de quelques espèces du genre *Cystoseira*. *Thèse de 3eme cycle*, Paris.

GUERN M., 1963. Embryologie de quelques espèces du genre *Cystoseira* Agardh 1821 (Fucales) (1). *Vie Milieu* 13 (4) : 649-679.

KNOEPFFLER-PEGUY M., GROS C., 1988. Cultures expérimentales d'une alginophyte de Méditerranée : *Cystoseira barbata* (Fucale). *Valorisation des Algues et autres Végétaux aquatiques*. Delepine R., Gaillard J., Morand P. (eds), Brest, IFREMER. Paris CNRS publ., France : 165-168.

LEMÉE R., 1996. Etude de la défense chimique de l'algue verte *Caulerpa taxifolia* introduite en Méditerranée occidentale. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, France.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., BRAUN M., CARVALHO N., FEBVRE M., IERARDI S., MANGIALAJO L., PASSERON-SEITRE G., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée : Situation au 31 décembre 1996. *Laboratoire Environnement Marin Littoral* publ., Université de Nice-Sophia Antipolis, France : 190 pp.

MICHANEK G., 1975. Seaweed Resources of the Ocean. *F.A.O. Fisheries technical paper* 138 : 1-128.

MOTTA G., CORMACI M., GIACCONE G., 1988. Osservazioni in coltura sui primi stadi di segmentazione dello zigote di alcune specie del genere *Cystoseira* C. Agardh (Fucales, Phaeophycophyta). *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 21 (333) : 199-208.

MUNDA I., 1972. The production of biomass in the settlements of benthic marine algae in the Northern Adriatic. *Bot. Mar. Dtsch.* 15 (4) : 218-244.

NORTH W.J., JAMES D.E., 1987. Use of *Cystoseira* and *Sargassum* embryonic sporophytes for testing toxicity effects. *Hydrobiol.* 151/152 : 417-423.

PELLEGRINI L., PELLEGRINI M., 1972. Contribution à l'étude biochimique des *Cystoseiracées* méditerranéennes. VII. *Cystoseira barbata* (Good. & Woodw.) Ag. *Bull.Mus. Hist. Nat.Marseille* 32 : 109-115.

SAUVAGEAU C., 1912. A propos des *Cystoseira* de Banyuls et de Guéthary. *Bull. Stat. Biol. Arcachon* 14 : 133-556.

SAUVAGEAU C., 1920. A propos des *Cystoseira* de Banyuls et de Guéthary. *Bull. Stat. Biol. Arcachon* Suppl. 1 : 3-52.

ŠPAN A., 1969. Some observations on the growth rate and growth rythm of species *Cystoseira* J. Ag. *Thalassia Jugoslavica* 5 : 337-345.

VICENTE N., TAIEB N., LELONG P., 1993. Disparition naturelle de l'algue *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusuc (Var-France). *Mar. Life* 3 (1-2) : 61-65.

ANALYSIS OF THE PHENOLIC COMPOUNDS IN *POSIDONIA OCEANICA* FROM SITES COLONIZED BY *CAULERPA TAXIFOLIA*

Lila FERRAT, Catherine FERNANDEZ, Olivier DUMAY

EqEL, Université de Corse, Faculté des Sciences et Techniques, BP 52, 20250 Corte, France

ABSTRACT

In an attempt to evaluate the stress experienced by *Posidonia oceanica* when it is in interspecific competition with *Caulerpa taxifolia*, the phenolic compounds present in the different foliar tissues in the former marine phanerogam species were analyzed. Four stations were selected based on their degree of colonization by *Caulerpa taxifolia*: (i) a non-colonized station and (ii) a slightly colonized station at Elba Island; (iii) a third non-colonized station and (iv) a highly colonized station at Cap Martin. The phenolic content was analyzed by spectrophotometry and HPLC and the number of tannin cells was also examined. Twenty-four phenolic compounds were identified, the most abundant being chicoric acid, ferulic acid, protochalcone and acetosyringone. Total phenolic compound content, as measured using HPLC, exhibited significant variations depending on the station and season examined. Differences at the different stations seemed to be linked to intraspecific competition. Conversely, both total phenolic compound content, as measured using spectrophotometry, and the number of tannin cells exhibited significant variations as a function of the station examined, which would seem to indicate the occurrence of interspecific competition. The presence of condensed tannins and / or other water-soluble phenolic compounds, which were not detected using HPLC, could be responsible for the results obtained.

RÉSUMÉ

Afin de mettre en évidence le stress engendré chez *Posidonia oceanica* lors d'une compétition interspécifique avec *Caulerpa taxifolia*, nous avons analysé les composés phénoliques présents dans les différents tissus foliaires de cette phanérogame marine. Quatre stations sont prises en compte en fonction de leur degré de colonisation par *Caulerpa taxifolia* : (i) une station non colonisée, et (ii) une peu colonisée à l'île d'Elbe ; (iii) une troisième non colonisée (iv) une fortement colonisée au Cap Martin. La composition phénolique est analysée par spectrophotométrie et HPLC, le nombre de cellules à tanin a également été étudié. Vingt quatre composés phénoliques ont été identifiés, les principaux sont l'acide chicorique, l'acide férulique, le protochaldéhyde et l'acétosyringone. Les teneurs totales en composés phénoliques dosés par HPLC présentent des variations significatives en fonction de la station étudiée et de la saison. Au niveau des stations, les différences semblent liées à la compétition intraspécifique. Par contre les teneurs totales en composés phénoliques dosés par spectrophotométrie et le nombre de cellules à tanin présentent des variations significatives en fonction de la station étudiée qui semblent liées à la compétition interspécifique. Les tanins condensés et / ou d'autres composés phénoliques hydrosolubles non dosés par HPLC semblent être responsables de ces phénomènes.

INTRODUCTION

The recent apparition of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh within indigenous communities of the Mediterranean has led to competition phenomena between the different macrophyte species. Its rapid spread has raised a number of questions concerning the disturbances that it may cause, in particular within *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile seagrass beds. *C. taxifolia* is capable of colonizing seagrass beds of this phanerogam (BOUDOURESQUE *et al.*, 1992) and in this way disturbing this ecosystem, widely considered to be the most important of the Mediterranean (BOUDOURESQUE & MEINESZ, 1982). Studies on the impact of *C. taxifolia* have often been directed towards populations existing within *P. oceanica* seagrass beds (invertebrates, fishes, etc.). It would thus appear of interest to examine the competition between *P. oceanica* and *C. taxifolia* from a physiological perspective. Among the different reactions observed in higher plants, the synthesis and accumulation of phenolic compounds are very frequently described. According to a number of authors, these phenomena represent reliable indicators of stress (Mc LACHLAN & CRAIGIE, 1966; SWAIN, 1977; QUACKENBUSH *et al.*, 1986; RAGAN & GLOMBITZA, 1986; CHALKER SCOTT & FUCHIGAMI, 1989).

In *Posidonia oceanica*, the increase in phenolic compound content has already been described for cases of stress due to pollution (AGOSTINI *et al.*, 1998). In addition, the increase in the number of tannin cells (cells which are specialized in the production of phenolic compounds) in those areas experiencing a high degree of *Caulerpa taxifolia* competition would seem to indicate the occurrence of a physiological stress reaction in *P. oceanica* (CUNY *et al.*, 1995). The aim of the present study was thus to evaluate total phenolic compound content in *P. oceanica* as a function of three main factors:

- (i) the degree of competition between the two species (non-colonized sites, low level colonization and high level colonization by *C. taxifolia*);
- (ii) the tissue type (adult or intermediate leaves);
- (iii) the season (winter, spring, summer).

Both a qualitative (identification of the main phenolic compounds) and quantitative (based on three different methods) analysis were performed.

MATERIAL AND METHODS

Sampling sites

Sampling of *Posidonia oceanica* shoots was carried out at two different geographical locations: Marina di Campo (Elba Island, Italy) and Cap Martin (Maritime Alps, France). These two sites present different colonization levels:

- *Caulerpa taxifolia* has been present at the Elba Island since 1991 and can be observed to form small scattered patches (1000 to 3500 fronds per m²; CECCHERELLI *et al.*, 1996), which are usually situated in close proximity to the seagrass beds. Competition at this site is therefore limited.

- At Cap Martin, the presence of *C. taxifolia* dates back to 1984 (MEINESZ & HESSE, 1991) and can be observed to form fairly dense meadows (5 000 to 14 000

fronds per m²; CECCHERELLI *et al.*, 1996) in which its frond are closely intertwined with those of *P. oceanica*. Competition at this site is therefore high.

Sampling was performed at random at both sites, at depths of approximately 10 m. At each of these sites, two stations were examined, (i) within the non-colonized phanerogam seagrass bed and (ii) within the seagrass bed colonized by *C. taxifolia*. Sampling was carried out during three different seasons at Elba Island: January 1998, April 1998 and July 1998. At the Cap Martin site, sampling was performed in May 1998. At each sampling station, 30 to 40 shoots were sampled. To simplify the results, the stations were coded: EAC (Elba And Caulerpa) for the station at Elba Island with *Caulerpa*, ENC (Elba No Caulerpa) for the station at Elba Island without *Caulerpa*, MAC (Martin And Caulerpa) for the station at Cap Martin with *Caulerpa*, and finally MNC (Martin No Caulerpa) for the station at Cap Martin without *Caulerpa*.

Study techniques

In the laboratory, *Posidonia oceanica* shoots were separated into different parts according to the protocol described by GIRAUD (1977). Only the blades of adult and intermediate leaves were used in the present study. The leaves were scraped with a razor blade to remove all epiphytes present on their surfaces and subsequently lyophilized. The samples were then weighed and divided into groups of three shoots each in order to reach a minimum of 0.5 g dry weight, as this is the minimum amount of material required to obtain an accurate and reproducible value for the phenolic compounds in the shoot extracts (AGOSTINI, 1996). A total of 140 samples were analyzed (20 samples for each sampling period with the exception of the January sampling period at Elba Island for which only 10 samples were available).

The phenolic compound extraction protocol is an adaptation of that of SAUVESTY & PAGE (1992), modified to accommodate marine phanerogams by CUNY *et al.* (1995) and AGOSTINI *et al.* (1998). An extraction method using alcohol was chosen as the majority of phenolic compounds can be extracted with either ethanol or methanol (VAN SUMERE, 1989). Methanol was used as a solvent to dissolve the dry residue.

Following extraction, two methods were used to analyze the samples:

- High Performance Liquid Chromatography (CUNY *et al.*, 1995; AGOSTINI *et al.*, 1998).
- Spectrophotometry (FRANTZIS, 1992), phloroglucinol (RAGAN & CRAIGIE, 1980) was used to generate the standard curves.

Estimation of the number of tannin cells was performed in order to determine the possible relationship between the presence of these cells and the levels of phenolic compounds. These cells are particularly abundant in leaves exhibiting a high level of metabolism (intermediate leaves), and it is thus this last tissue type which was examined. The protocol used is that of PERGENT (1987) and VILLÈLE (1992).

Variations in the phenolic compound levels as a function of season, tissue type or station were statistically analyzed using either the Kruskal Wallis or Mann and Whitney non-parametric test. The two methods were compared using the Wilcoxon test

(ZAR, 1984). All statistical analyses were carried out using the Statgraphics plus 2.8 software.

RESULTS

The chromatography analysis of the 140 samples (tab. I to III) allowed the identification of 24 water-soluble phenolic compounds. This represents 70 % of the total water-soluble phenolic contents measured in the extracts. The four most abundant compounds are:

- Chicoric acid (dicafeyltartric acid), which accounted for 70 to 85 % of the compounds identified;
- Ferulic acid (hydroxy-4 methoxy-3 cinnamic acid), representing 4 to 9 %;
- Protochalcone (dihydroxy-3,4 benzaldehyde), 2 to 5 % and finally;
- Acetosyringone (hydroxy-4 methoxy-3,5 acetophenone) representing 1 to 3 %.

The remaining phenolic compounds accounted for less than 1 % of the phenolic compounds identified.

Table I. Mean abundance of tannin cells (expressed as the number of cells per mm²); mean total phenolic compound content as determined by spectrophotometry; total phenolic compound content as determined using HPLC; mean level for each compound identified at the two Cap Martin stations (MAC: Cap Martin with *Caulerpa*; MNC Cap Martin without *Caulerpa*). Values given are means \pm 95 % confidence interval, expressed in mg / g dry weight.

Station	MAC		MNC	
	Adult	Intermediate	Adult	Intermediate
Leaves				
Tannin cells	-	54,26 \pm 4.70	-	30,68 \pm 3,54
Spectrophotometry	11.405 \pm 1.941	15.138 \pm 3.269	12.36 \pm 1.285	11.489 \pm 1.608
HPLC	4,68 \pm 1,07	2,7 \pm 0,99	4,96 \pm 1,64	4,08 \pm 1,22
Chicoric acid	3.722 \pm 0.98	2.289 \pm 0.88	4.107 \pm 1.25	3.561 \pm 0.99
Ferulic acid	0.176 \pm 0.06	0.133 \pm 0.06	0.347 \pm 0.18	0.229 \pm 0.10
Protochalcone	0.217 \pm 0.06	0.075 \pm 0.02	0.174 \pm 0.11	0.101 \pm 0.06
Cinnamic acid	0.016 \pm 0.009	0.019 \pm 0.025	0.05 \pm 0.034	0.041 \pm 0.008
Acetosyringone	0.173 \pm 0.07	0.022 \pm 0.017	0.069 \pm 0.05	0.037 \pm 0.03
Ac. 4 OH benzaldehyde	0.081 \pm 0.04	0.008 \pm 0.016	0.035 \pm 0.029	0.031 \pm 0.019
Syringic acid	0.05 \pm 0.02	0.003 \pm 0.005	0.038 \pm 0.028	0.024 \pm 0.065
Phenol	0.025 \pm 0.016	0.018 \pm 0.007	0.026 \pm 0.018	0.015 \pm 0.013
Acetovanillone	0.021 \pm 0.015	0.007 \pm 0.004	0.018 \pm 0.017	0.011 \pm 0.014
p coumaric acid	0.078 \pm 0.034	0.013 \pm 0.005	0.015 \pm 0.016	0.007 \pm 0.006
Syringaldehyde	0.022 \pm 0.026	0.003 \pm 0.001	0.009 \pm 0.008	0.007 \pm 0.005
Sinapic acid	0.001 \pm 0.002	0.003 \pm 0.004	0.004 \pm 0.006	0.004 \pm 0.001
Vanillic acid	0.006 \pm 0.006	0.038 \pm 0.017	0.019 \pm 0.012	0.004 \pm 0.007
Pyrocatechol	0.004 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001	0.003 \pm 0.003	0.004 \pm 0.007
Benzoic acid	0.056 \pm 0.019	0.005 \pm 0.001	0.014 \pm 0.011	0.004 \pm 0.003
Panisis acid	0.013 \pm 0.005	0.006 \pm 0.004	0.009 \pm 0.011	0.001 \pm 0.005
Vanillin	0.002 \pm 0.001	0.031 \pm 0.01	0.003 \pm 0.005	0.001 \pm 0.001
4 OH acetophenone	0.003 \pm 0.003	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.003	0.001 \pm 0.001
4 OH benzoic acid	0.008 \pm 0.004	0.007 \pm 0.001	0.002 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001
Phloroglucinol	0.002 \pm 0.002	0.015 \pm 0.003	0.002 \pm 0.003	0.001 \pm 5.10 ⁻⁴
Protocatechic acid	0.003 \pm 0.003	0.001 \pm 0.001	0.004 \pm 0.006	7E ⁻⁴ \pm 0.001
Pyrogallol	0.003 \pm 0.002	0.001 \pm 0.002	0.002 \pm 0.003	2E ⁻⁴ \pm 3E ⁻⁴
Gallic acid	0.002 \pm 0.002	0.002 \pm 4.10 ⁻⁴	0.003 \pm 0.006	9.5E ⁻³ \pm 1E ⁻⁴
Caffeic acid	0	0.001 \pm 0.001	0.001 \pm 0.003	0

Table II. Mean abundance of tannin cells (expressed as the number of cells per mm²); mean total phenolic compound content as determined by spectrophotometry; total phenolic compound content as determined using HPLC; the mean level of each compound identified a Elba Island station without *Caulerpa* (ENC). Values given are means \pm 95 % confidence interval, expressed in mg / g dry weight.

Season	Winter		Spring		Summer	
	Adult	Intermediate	Adult	Intermediate	Adult	Intermediate
Tannin cells	-	-	-	-	-	34.33 \pm 1.99
Spectro	6.53 \pm 1.05	5,83 \pm 0,76	15.2 \pm 3.346	14,55 \pm 2,41	14.197 \pm 0.62	-
HPLC	4,98 \pm 1,38	6,3 \pm 1,22	5,83 \pm 1,93	4,4 \pm 1,17	6,96 \pm 1,17	-
Chicoric acid	4.03 \pm 1.15	5.126 \pm 0.96	4.539 \pm 1.35	3.617 \pm 0.92	5.206 \pm 0.86	-
Ferulic acid	0.166 \pm 0.06	0.214 \pm 0.05	0.235 \pm 0.06	0.376 \pm 0.28	0.662 \pm 0.14	-
Protochalcone	0.206 \pm 0.07	0.281 \pm 0.075	0.299 \pm 0.162	0.095 \pm 0.052	0.379 \pm 0.07	-
Cinnamic acid	0.035 \pm 0.012	0.021 \pm 0.012	0.047 \pm 0.026	0.019 \pm 0.007	0.044 \pm 0.007	-
Acetosyringone	0.115 \pm 0.04	0.117 \pm 0.03	0.192 \pm 0.09	0.016 \pm 0.03	0.026 \pm 0.031	-
Ac 4 OH benzaldehyde	0.026 \pm 0.009	0.004 \pm 0.003	0.058 \pm 0.027	0.006 \pm 0.004	0.019 \pm 0.005	-
Syringic acid	0.01 \pm 0.003	0.001 \pm 0.001	0.01 \pm 0.006	0.009 \pm 0.009	0.029 \pm 0.027	-
Phenol	0	0	0.047 \pm 0.025	0.027 \pm 0.017	0.031 \pm 0.008	-
Acetovanillone	0.001 \pm 5.10 ⁻⁴	0.24 \pm 0.47	0.002 \pm 0.001	0.001 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	-
p coumaric acid	0.043 \pm 0.016	0.034 \pm 0.027	0.112 \pm 0.06	0.014 \pm 0.009	0.067 \pm 0.042	-
Syringaldehyde	0.003 \pm 0.001	0.001 \pm 0.002	0.008 \pm 0.006	0.001 \pm 0.002	0.006 \pm 0.003	-
Sinapic acid	0.015 \pm 0.004	0.02 \pm 0.004	0.001 \pm 0.001	0.001 \pm 0.001	0.019 \pm 0.008	-
Vanillic acid	0.094 \pm 0.035	0.136 \pm 0.02	0.109 \pm 0.007	0.064 \pm 0.028	0.222 \pm 0.047	-
Pyrocatechol	0.001 \pm 0.001	0	0.002 \pm 0.003	0	0.001 \pm 0.001	-
Benzoic acid	0.026 \pm 0.009	0.002 \pm 0.002	0.035 \pm 0.018	0.021 \pm 0.016	0.029 \pm 0.009	-
Panisis acid	0.061 \pm 0.027	0.062 \pm 0.024	0.024 \pm 0.014	0.026 \pm 0.001	0.031 \pm 0.009	-
Vanillin	0.035 \pm 0.013	0.015 \pm 0.006	0.09 \pm 0.06	0.059 \pm 0.077	0.118 \pm 0.036	-
4 OH acetophenone	0.002 \pm 0.001	0	0.002 \pm 0.002	0.002 \pm 0.002	0.005 \pm 0.001	-
4 OH benzoic acid	0.051 \pm 0.007	0.026 \pm 0.012	0.011 \pm 0.009	0.01 \pm 0.013	0.039 \pm 0.007	-
Phloroglucinol	0.018 \pm 0.003	0.000 \pm 3.10 ⁻⁴	0.008 \pm 0.002	0.03 \pm 0.055	0.011 \pm 0.002	-
Protocatechic acid	0.003 \pm 0.002	0	4E ⁻⁴ \pm 4E ⁻⁴	0	0.002 \pm 0.001	-
Pyrogallol	0.01 \pm 0.007	0.001 \pm 0.001	0.004 \pm 0.003	0.001 \pm 0.002	0.003 \pm 0.002	-
Gallic acid	0.001 \pm 0.001	0	2E ⁻⁴ \pm 3E ⁻⁴	0.001 \pm 0.002	0.001 \pm 0.001	-
Caffeic acid	1E ⁻⁴ \pm 1E ⁻⁴	0	3.15E ⁻⁵ \pm 4E ⁻⁵	0	0.004 \pm 0.007	-

Total phenolic compound content measured in the various tissues using HPLC (total content of the compounds identified), did not vary significantly (Man and Whitney test, $p > 0.005$) regardless of the season or station examined. The seasonal analysis (adult leaves) at the EAC station revealed that the phenolic content observed was significantly lower in winter than in either spring or summer (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$). Although similar variations were observed at the ENC station, these were not significant (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$). As the total phenolic content in the two tissues was identical for the seasons examined, the results for the adult and intermediate leaves were pooled. In addition, as there were no significant differences between the spring and summer, the data obtained in the spring at Cap Martin (May sampling) could be compared to that obtained at Elba Island (April sampling). Statistical analyses revealed that the phenolic content was significantly higher at the ENC station than at EAC, both in winter and summer (Mann and Whitney test, $p < 0.05$).

Table III. Mean abundance of tannin cells (expressed as the number of cells per mm²); mean total phenolic compound content as determined by spectrophotometry; total phenolic compound content as determined using HPLC; the mean level of each compound identified at Elba Island station with *Caulerpa* (EAC). Values given are means \pm 95 % confidence interval, expressed in mg / g dry weight.

Season	Winter		Spring		Summer	
	Adult	Intermediate	Adult	Intermediate	Adult	Intermediate
Leaves						
Cellules à tannin	-	-	-	-	-	37.93 \pm 1.03
Spectro	9.91 \pm 1.474	9,25 \pm 1,06	21.534 \pm 3.34	27,04 \pm 3,86	10.63 \pm 0.624	-
HPLC	3,36 \pm 1,09	2,02 \pm 0,62	6,6 \pm 1,68	7,21 \pm 2,13	5,34 \pm 0,4	-
Chicoric acid	2.388 \pm 0.81	1.693 \pm 0.58	5.323 \pm 1.41	5.908 \pm 1.56	4.22 \pm 0.29	-
Ferulic acid	0.172 \pm 0.05	0.137 \pm 0.05	0.267 \pm 0.06	0.683 \pm 0.94	0.452 \pm 0.08	-
Protochaldehyde	0.191 \pm 0.078	0.051 \pm 0.039	0.283 \pm 0.007	0.208 \pm 0.15	0.224 \pm 0.022	-
Cinnamic acid	0.018 \pm 0.011	0	0.028 \pm 0.013	0.054 \pm 0.034	0.072 \pm 0.016	-
Acetosyringone	0.109 \pm 0.04	0.028 \pm 0.02	0.168 \pm 0.07	0.03 \pm 0.03	0.011 \pm 0.003	-
Ac 4 OH benzaldehyde	0.03 \pm 0.01	0.007 \pm 0.014	0.017 \pm 0.006	0.003 \pm 0.005	0.01 \pm 0.004	-
Syringic acid	0.012 \pm 0.004	0	0.013 \pm 0.004	0.006 \pm 0.007	0.015 \pm 0.004	-
Phenol	0.041 \pm 0.016	0	0.041 \pm 0.008	0.017 \pm 0.017	0.016 \pm 0.004	-
Acetovanillone	0.003 \pm 0.002	2E ⁻⁴ \pm 3E ⁻⁴	0.002 \pm 0.002	0.002 \pm 0.003	0.002 \pm 0.002	-
p coumaric acid	0.05 \pm 0.025	0.002 \pm 2E ⁻³	0.063 \pm 0.029	0.051 \pm 0.029	0.018 \pm 0.002	-
Syringaldehyde	0.005 \pm 0.002	8.4E ⁻⁵ \pm 2E ⁻⁴	0.005 \pm 0.002	0.002 \pm 0.002	0.006 \pm 0.001	-
Sinapic acid	0.018 \pm 0.016	0.004 \pm 0.002	0.007 \pm 0.002	0.006 \pm 0.004	0.01 \pm 0.001	-
Vanillic acid	0.105 \pm 0.042	0.05 \pm 0.021	0.134 \pm 0.027	0.108 \pm 0.063	0.109 \pm 0.012	-
Pyrocatechol	0.004 \pm 0.003	0.008 \pm 0.016	0.005 \pm 0.004	1.5E ⁻⁵ \pm 3E ⁻⁵	0.000 \pm 1E ⁻⁴	-
Benzoic acid	0.023 \pm 0.017	0.005 \pm 0.009	0.025 \pm 0.008	0.016 \pm 0.016	0.03 \pm 0.008	-
Panisis acid	0.034 \pm 0.021	0.011 \pm 0.016	0.023 \pm 0.008	0.072 \pm 0.106	0.011 \pm 0.003	-
Vanillin	0.069 \pm 0.025	0.002 \pm 0.002	0.085 \pm 0.015	0.025 \pm 0.021	0.107 \pm 0.013	-
4 OH acetophenone	4E ⁻⁴ \pm 0.001	0.002 \pm 0.004	0.004 \pm 0.001	0.004 \pm 0.004	0.003 \pm 0.001	-
4 OH benzoic acid	0.013 \pm 0.007	0.003 \pm 0.006	0.026 \pm 0.005	0.003 \pm 0.004	0.012 \pm 0.005	-
Phloroglucinol	0.035 \pm 0.01	5.9E ⁻⁵ \pm 1E ⁻⁴	0.03 \pm 0.005	0.008 \pm 0.006	0.006 \pm 0.003	-
Protocatechic acid	0.008 \pm 0.006	0.004 \pm 0.008	0.013 \pm 0.007	0	0.001 \pm 0.001	-
Pyrogallol	0.019 \pm 0.01	0.013 \pm 0.023	0.039 \pm 0.014	2E ⁻⁴ \pm 4E ⁻⁴	0.002 \pm 0.002	-
Gallic acid	0.004 \pm 0.003	0.004 \pm 0.008	0.001 \pm 0.001	0	4E ⁻⁴ \pm 0.001	-
Caffeic acid	2E ⁻⁴ \pm 3E ⁻⁴	0	0	0	2.4E ⁻⁵ \pm 3E ⁻⁵	-

In the spring, only the differences between the stations EAC and MAC proved to be significant (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$, NKS test, $p < 0.05$). The analysis of the main phenolic compounds observed revealed that there were significant differences in the mean levels of chicoric acid (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$). These levels were higher at the stations lacking *Caulerpa taxifolia* (ENC and MNC) as compared to those where *C. taxifolia* was present (EAC and MAC).

The spectrophotometry results are different from those obtained using HPLC, for both the quantitative levels recorded (5 to 27 mg / g, tab. I to III) and the effect of the factors examined. The total phenolic compound levels at the EAC station were significantly higher than those recorded at the ENC station (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$). In addition, levels at the MAC station were significantly higher than at the MNC, EAC and ENC stations (Kruskall Wallis test, $p < 0.05$).

Finally, the number of tannin cells was always significantly higher at those stations where *C. taxifolia* was present (Mann and Whitney test, $p < 0.05$), regardless of the study site (Cap Martin or Elba Island). In addition, at the stations with *C. taxifolia*, the number of tannin cells observed was always greater at Cap Martin (MAC) than at Elba Island (EAC).

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The present study has revealed the importance of chicoric acid in the phenolic composition of *Posidonia oceanica*. Indeed, this phenolic compound had never been identified in previous studies using HPLC, except one other study (CARIELLO & ZANETTI, 1979) which showed that this is the most abundant phenolic compound in the leaves of *P. oceanica*. This acid was observed to account for 70 % of the phenolic compounds identified and it would appear that the variations in the levels of this compound determine the evolution in total water-soluble phenolic compound levels. The remaining compounds identified here are similar to those already described in *P. oceanica* (CUNY *et al.*, 1995; AGOSTINI *et al.*, 1998).

The similarity in phenolic compound content observed in the two tissues examined is in contradiction with results recorded in the literature (CARIELLO & ZANETTI, 1979; HARRISON, 1982; AGOSTINI *et al.*, 1998). As a general rule, these authors observed higher levels in the intermediate leaves. These leaves possess a higher growth rate and should thus produce higher levels of phenolic compounds. The results of the present study could be due to a high growth rate of the adult leaves during the sampling period (RICO-RAIMONDINO, 1995). This would lead to an increased metabolism in this leaf tissue and, consequently, to higher phenolic compound contents.

Seasonal variations in phenolic compound content have already been described for other benthic macrophytes. Such seasonal variations are complex and can be linked to the organism's reproductive cycle (RAGAN & JENSEN, 1977), variations in temperature (VERGEER *et al.*, 1995), light: photoperiod or intensity (VERGEER *et al.*, 1995), nutrient levels in the water column (RAGAN & GLOMBITZA, 1986; RAVN *et al.*, 1994) or the growth cycle (HARRISON & DURANCE, 1989). These last authors demonstrated that, in *Zostera marina* (L.), a maximum concentration was observed during the most active growth period. The results of the present study would seem to be in agreement with this observation. The increase in phenol content which occurs between winter and summer corresponds to an increase in the growth of *P. oceanica* leaves throughout this period (RICO-RAIMONDINO, 1995).

Insofar as the actual competition with *Caulerpa taxifolia* is concerned, HPLC analysis revealed significant differences in the water-soluble phenolic compound levels at the sites and stations experiencing very little competition from *C. taxifolia*. Elba Island is a site exhibiting a very recent and limited colonization, thus leading to the assumption that the impact due to competition would be low. Conversely, the high degree of colonization at Cap Martin would suggest a higher impact from competition.

The results of the present study, however, seem to demonstrate that the stress caused by competition with *C. taxifolia* has very little impact on the production of water-soluble phenolic compounds. These results are in agreement with those of CUNY *et al.* (1995) and AGOSTINI *et al.* (1998). Other sources of stress must be responsible for the differences observed. These include: nutrient limitation (CHALKER SCOTT & FUCHIGAMI, 1989), heavy metal pollution (RAGAN & GLOMBITZA, 1986) and intra- or interspecific competition (Mc LACHLAN & CRAIGIE, 1966). A difference in pollution or nutrient levels between the two stations at Elba Island or at Cap Martin (be they colonized by *C. taxifolia* or not) can be excluded due to the geographic proximity of the stations at a given site. A more probable hypothesis involves intraspecific competition. The EAC station at Elba Island site is located at the edge of a seagrass bed whereas the ENC station is in the middle of a seagrass bed for which the shoot density is sub-normal (according to PERGENT *et al.*, 1995). The intraspecific competition in this last station in terms of light and nutrients would therefore be much higher (PERGENT-MARTINI, 1994), thus leading to an increase in the phenolic production. This hypothesis is supported by the finding that the total phenol levels at Cap Martin (where the seagrass bed is sparse) are lower than those at Elba Island. The density of the seagrass bed, and therefore the degree of intraspecific competition, may represent one of the factors involved in the production of water-soluble phenolic compounds and in particular in the production of chicoric acid.

The two other methods employed (spectrophotometry and tannin cell counts) provide information which is complementary to that generated using HPLC. Indeed, the number of tannin cells and the total phenolic compound levels are higher in those stations exhibiting interspecific competition. It would thus appear that other compounds, not identified using HPLC, are involved in the reaction of *Posidonia oceanica*. These compounds would include water-soluble phenolic compounds of greater complexity and which are thus not detected by the HPLC technique used. We may note that the increase in non water-soluble phenolic compounds has been observed in other plants following environmental stress (CHALKER-SCOTT & FUCHIGAMI, 1989; SOUTHERTON & DEVERALL, 1990), in fact, the hypothesis of the role of condensed non water-soluble phenolic compounds in interspecific competition must be accepted.

Although preliminary, the results presented here reveal the complexity of the phenomena involved in phenolic compound production. In order to increase our understanding of the effect of interspecific competition, future research efforts should be directed towards the analysis of condensed tannins and the identification of a greater number of phenolic compounds, in particular through the use of Gas Phase Chromatography coupled to a mass spectrometer.

Acknowledgements: The authors wish to thank the Drs Gérard and Christine PERGENT from the University of Corsica for their advice at all stages of this study, Jean Marie DESJOBERT for his precious help with the chromatographic techniques, Dr Claude ANDARY of the University of Montpellier for providing us with the chicoric acid extracts necessary for the identification of this compound and Dr Vanina PASQUALINI for participating in the sampling. Many thanks as well to Dr Monique JOHNSON for translating the document into English. This work was supported by the

Corsican Environment Office and the Commission des Communautés Européennes (DG XI – Life, INTERREG Corse-Toscane).

REFERENCES

- AGOSTINI S., DESJOBERT J.M., PERGENT G., 1998. Distribution of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Phytochemistry* 48 (4) : 611-617.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., 1982. Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cahiers du Parc National de Port Cros* 4 : I-III+1-79.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., VERLAQUE M., KNOEPFFLER-PEGUY M., 1992. The expansion of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Journées phycologiques* : 144-145.
- CARIELLO L., ZANETTI L., 1979. Distribution of chicoric acid during leaf development of *Posidonia oceanica*. *Botanica marina* 22 (6) : 359-360.
- CECCHERELLI G., BENEDETTI-CECCHI L., CINELLI F., 1996. Spatio-temporal variability in size of *Caulerpa taxifolia* in the Elba island population. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballestros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds, Universitat Barcelona publ., Spain : 177-183.
- CHALKER-SCOTT L., FUCHIGAMI L.H., 1989. The role of phenolic compounds in plant stress responses. *Low temperature stress physiology in crops*. Edited by P.H. Li. CRC Press, Boca Raton, Fla. : 67-79.
- CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1995. Water soluble phenolic compounds of the marine phanerogame *Posidonia oceanica* in a Mediterranean area colonised by the introduced chlorophyte *Caulerpa taxifolia*. *Aquatic botany* 52 : 237-242.
- FRANTZIS A., 1992. Etude expérimentale des niveaux de consommation et d'utilisation des macrophytes et des détritiques dérivés par deux invertébrés benthiques *Paracentrotus lividus* et *Abra ovata*. *Thèse de doctorat*, Université Aix Marseille II, France.
- GIRAUD G., 1977. Contribution à la description et à la phénologie quantitative des herbiers à *Posidonia oceanica* (L) Delile. *Thèse de Doctorat*, Université Aix-Marseille II, France : 150 pp.
- HARRISON P.G., 1982. Control of microbial growth and of amphipod grazing by water soluble compounds from leaves of *Zostera marina*. *Mar. Biol.* 67 : 225-230.
- HARRISON P.G., DURANCE C., 1989. Seasonal variation in phenolic content of eelgrass shoots. *Aquatic Botany* 35 : 409-413.
- Mc LACHLAN J., CRAIGIE J.S., 1966. Antialgal activity of some simple phenols. *J. Phycol.* 2 : 133-135.
- MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-Occidentale. *Oceanologica Acta* 14(4) : 415-426.
- PERGENT G., 1987. Recherches lépidochronologiques chez *Posidonia oceanica* (Potamogetonaceae). Fluctuation des paramètres anatomiques et morphologiques des écailles de rhizomes. *Thèse de Doctorat*. Université Aix-Marseille II, France.

PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., BOUDOURESQUE C.F., 1995. Utilisation de l'herbier à *Posidonia oceanica* comme indicateur biologique de la qualité du milieu littoral en Méditerranée : état des connaissances. *Mésogée* vol. 54 : 3-27.

PERGENT-MARTINI C., 1994. Urban sewage effects on *Posidonia oceanica* seagrass beds before and after the opening of the Marseilles sewage treatment plant. Thèse de Doctorat, Université de Corse, France : 208 pp.

QUAKENBUSH R.C., BUNN D., LINGREN W.E., 1986. HPLC determination of phenolic acids in the water soluble extract of *Zostera marina* L. (eelgrass). *Aquatic botany* 24 : 83-89.

RAGAN M.A., CRAIGIE J.S., 1978. Quantitative studies on brown algal phenols. IV. Ultraviolet spectrophotometry of extracted polyphenols and implications for measuring dissolved organic matter in sea water. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 46 : 231-239.

RAGAN M.A., GLOMBITZA K.W., 1986. Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progr. Phycol. Res.* 4 : 130-241.

RAGAN M.A., JENSEN A. 1977. Quantitative studies on brown algal phenolics. I. Estimation of absolute polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jol. And *Fucus vesiculosus* (L). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 34 : 245-258.

RAVN H., PEDERSEN M.H., BORUM J., ANDARY C., ANTHONI U., CHRISTOPHERSEN C., NIELSEN P.H., 1994. Seasonal variation and distribution of two phenolic compounds, rosmarinic acid and caffeic acid, in leaves and roots rhizomes of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Ophelia* 40 : 51-61.

RICO-RAIMONDINO V., 1995. Contribution à l'étude des stocks et flux d'éléments dans les herbiers à *Posidonia oceanica*. Thèse Doctorat Ecologie, Université Aix-Marseille II, France : 1-248.

SAUVESTY A., PAGE F., 1992. A simple method for extracting plant phenolics compounds. *Can. J. For. Res.* 22 : 654-659.

SOUTHERTON S.G., DEVERALL B.J., 1990. Changes in phenolic acid levels in wheat leaves expressing resistance to *Puccinia recondita* F. Sp. Triticici. *Physiol. Molec ; Pl. Pathol.* 37 : 437-450.

SWAIN T., 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annu Mar. Plant Physiol* 28 : 479-501.

VAN SUMERE C.F., 1989. Phenols and phenolics acids. *Methods in plant biochemistry*, vol 1 : Plant phenolics. Dey P.M., Harborne J.B. (Eds.), Academic Press, London : 29-73.

VERGEER L.H.T., AARTS T.L., DE GROOT., 1995. The 'wasting disease' and the effect of abiotic factors (light intensity, temperature, salinity) and infection with *Labyrinthula zosterae* on the phenolic contents of *Zostera marina* shoots. *Aquatic botany* 52 : 35-44.

VILLÈLE X. de, 1992. Etude de l'impact de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh sur les herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Rapport de stage d'IUT "Génie de l'Environnement"*, Perpignan, LBMEB Marseille publ. : 32 pp

ZAR J.H., 1984. Biostatistical analysis. Prentice-Hall International Ed., U.K., 2^{ème} éd. : 718 pp.

PRELIMINARY RESULTS OF EPIPHYTIC FLORA FOUND ON *CAULERPA TAXIFOLIA* IN STARI GRAD BAY (HVAR ISLAND, CROATIA)

Boris ANTOLIĆ, Ante ŽULJEVIĆ & Ante ŠPAN

Institute of Oceanography and Fisheries, Šet. I. Meštrovića 63, P.O.Box 500, 21000 Split,
Croatia

ABSTRACT

The investigations on epiphytic flora and vegetation on *Caulerpa taxifolia* fronds and stolons in Stari Grad Bay (Hvar Island) were carried out, between 1 and 12 m depth, in autumn 1997 and spring 1998. A total of 77 species were recorded in epiphytic flora and infraspecies taxa of epiphytic algae. More epiphytic algal taxa were recorded on stolons (total of 65 taxa) than on fronds (total of 55 taxa). The structural composition of epiphytic vegetation were analyzed by the total cover of sample (Rt %), by the mean total cover of sample (RM %), by the mean of total cover of the individual epiphytic algal taxa (RMi %), by the qualitative (DN %) and the quantitative dominance (DR %) of ecological supergroups and groups, and morpho-functional groups. The highest values of total mean cover (RMi %) were recorded in the following epiphytic algal taxa: *Pneophyllum fragile* (4.67 %), *Fosliella farinosa* (4.67 %) and *Myrionema orbiculare* (4.64 %) on fronds and *Pneophyllum fragile* (5.39 %), *Fosliella farinosa* (5.37 %), *Polysiphonia scopulorum* (2.17 %), *Titanoderma pustulatum* var. *pustulatum* (2.14 %) and *Lophosiphonia obscura* (2.14%) on stolons.

RÉSUMÉ

L'étude des épiphytes des frondes et des stolons de *Caulerpa taxifolia* dans la Baie de Stari Grad (île de Hvar) a été menée, entre 1 et 12 m de profondeur, en automne 1997 et au printemps 1998. 77 espèces et infra-espèces (taxons) ont été trouvées parmi les épiphytes. Un nombre plus important de taxons ont été trouvés sur les stolons (65) que sur les frondes (55). La composition structurale de la végétation épiphyte a été analysée par la couverture totale de l'échantillon (Rt %), la couverture moyenne de l'échantillons (RM %), la couverture moyenne de chaque taxon (RMi %), la dominance qualitative (DN %) et quantitative (DR %) des groupes et super-groupes écologiques, et des groupes morpho-fonctionnels. Les couvertures moyennes les plus fortes ont été mesurées pour : *Pneophyllum fragile* (4.67 %), *Fosliella farinosa* (4.67 %) et *Myrionema orbiculare* (4.64 %) sur les frondes et *Pneophyllum fragile* (5.39 %), *Fosliella farinosa* (5.37 %), *Polysiphonia scopulorum* (2.17 %), *Titanoderma pustulatum* var. *pustulatum* (2.14 %) et *Lophosiphonia obscura* (2.14%) sur les stolons.

INTRODUCTION

The tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh was observed for the first time in the Mediterranean sea, in 1984, at Monaco (MEINESZ & HESSE, 1991). From that time on, it has been sighted at many locations on the French, Spanish, Italian and Croatian coasts. It was estimated that at the end of 1997, the affected area was about 4 500 ha (MEINESZ, 1998).

In the Adriatic Sea, we recorded *Caulerpa taxifolia* for the first time in August 1994, in Stari Grad Bay (Hvar Island). The second record was made by divers, in March 1995, in Malinska (Krk Island), and the last record was in October 1996 in Barbat Channel (between Dolin Island and Rab Island; ŠPAN *et al.*, 1998). By the end of 1997, *Caulerpa taxifolia* occupied about 13 ha on different types of substratum and at two locations (Stari Grad Bay and Malinska; ZULJEVIĆ *et al.*, 1998).

Because of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea, the qualitative and quantitative composition of autochthonic benthic bioconoses have changed drastically (BOUDOURESQUE *et al.*, 1995). The most important changes involving the decrease of algal biodiversity were recorded in cover of erect, filamentous and epiphytic taxa (BOUDOURESQUE *et al.*, 1992). Many of the normally expected algal taxa have disappeared: firstly the fleshy taxa with their epiphytes, then the filamentous taxa and finally the encrusting taxa (VERLAQUE & FRITAYRE, 1994).

This paper presents the preliminary results of the investigations of epiphytic flora and vegetation development on the different parts of *Caulerpa taxifolia* thalli (fronds and stolons) in Stari Grad Bay (Hvar Island, Croatia).

MATERIAL AND METHODS

Investigations were carried out by SCUBA diving, in autumn 1997 and spring 1998, between 1 and 12 m depth, on the *Caulerpa taxifolia* settlement in Stari Grad Bay (Hvar Island) (43°10'54'' N - 16°35'00'' E). The epiphytic flora and vegetation were investigated on different parts of *Caulerpa taxifolia* thalli (fronds and stolons). A total of 7 samples of 400 cm² were collected and analyzed.

The floristic composition of epiphytic algae is represented by the relationship of number and percentages (DN %) of the taxonomic divisions: Rhodophyta, Phaeophyta and Chlorophyta. The structure of the epiphytic community was analyzed by synthetic parameters (BOUDOURESQUE, 1971):

- total cover of sample (Rt %);
- mean total cover of sample (RM %);
- mean total cover of the individual epiphytic algal taxa (RMi %);
- qualitative dominance (DN %) of ecological supergroups (Phsl, Ssl, RMsl, ETNsl), ecological groups (ISR, HP, D) and morpho-functional groups (calcareous encrusting algae, "soft" encrusting algae, foliose algae, filamentous algae);
- quantitative dominance (DR %) of taxonomic divisions (Rhodophyta, Phaeophyta, Chlorophyta), ecological supergroups (Phl, Ssl, RMsl, ETNsl), ecological groups (ISR, HP, D) and morphofunctional groups (calcareous encrusting algae, "soft" encrusting algae, foliose algae, filamentous algae).

The grouping of epiphytic algal taxa in ecological supergroups and groups was performed by slightly simplified system by BOUDOURESQUE (1970, 1984), and the grouping in morphofunctional groups was performed by MAZZELLA *et al.* (1989).

RESULTS AND DISCUSSION

Flora

A total of 77 species and infraspecies taxa of epiphytic algae were recorded (Rhodophyta: 57 taxa, 74 %; Phaeophyta: 10 taxa, 13 %; Chlorophyta: 10 taxa, 13 %) in all samples of *Caulerpa taxifolia* (tab. I). More epiphytic taxa were recorded on stolons (total: 65 taxa; Rhodophyta: 50 taxa, 76.9 %; Chlorophyta: 9 taxa, 13.9 %; Phaeophyta: 6 taxa, 9.2 %) than on fronds (total: 55 taxa; Rhodophyta: 41 taxa, 74.4 %; Phaeophyta: 10 taxa, 18.2 %; Chlorophyta: 3 taxa, 5.4 %; fig. 1). The total number of epiphytic algal taxa per sample varied from 7 to 23 taxa on fronds (the mean value is 17.6 taxa), and from 13 to 27 taxa on stolons (the mean value is 24.5 taxa; fig. 2).

VERLAQUE & FRITAYRE (1994) have investigated the changes in Mediterranean algal communities in the face of *Caulerpa taxifolia*. In their samples with *Caulerpa taxifolia* the number of algal taxa ($R_i = 0.01-0.50$ %) varied from 7 to 29 taxa per sample and these results are compared with ours.

Table I. Number (N), qualitative dominance (DN %), mean total cover (RM %) and quantitative dominance (DR %) of epiphytic flora and vegetation developed on *Caulerpa taxifolia* fronds and stolons in Stari Grad Bay.

Part of <i>Caulerpa taxifolia</i> thalli	FRONDS				STOLONS			
	N	DN %	RM %	DR %	N	DN %	RM %	DR %
Rhodophyta	41	74.2	12.09	65.4	50	76.9	20.05	91.8
Phaeophyta	10	18.2	6.29	34.0	6	9.2	1.27	5.8
Chlorophyta	3	5.4	0.11	0.6	9	13.9	0.57	2.4
Total	55		18.49		65		21.84	
Phsl	20	36.4	1.24	6.7	19	29.2	4.04	18.5
Ssl	14	25.5	1.01	5.5	25	38.5	3.10	14.2
RMsl	1	1.8	0.01	0.1	-	-	-	-
ETNsl	2	3.6	0.40	2.2	2	3.1	0.04	0.2
ISR	4	7.3	0.52	2.8	3	4.6	0.46	2.1
HP	5	9.1	10.06	54.4	4	6.2	6.16	28.2
D	9	16.4	5.25	28.4	12	18.5	8.04	36.8
Total	55		18.49		65		21.84	
filamentous algae	47	85.5	4.04	21.9	49	75.4	7.70	35.3
foliose algae	3	5.5	0.10	0.5	5	7.7	0.07	0.3
calcareous encrusting algae	4	7.3	9.71	52.5	5	7.7	13.28	60.8
“soft” encrusting algae	1	1.8	4.64	25.1	6	9.2	0.79	3.6
Total	55		18.49		65		21.84	

GIACCONE & DI MARTINO (1997) have investigated the structure of a *Caulerpa taxifolia* community in Monaco and Messina Straits. They have recorded 54 epiphytic algal taxa in 9 samples of *Caulerpa taxifolia* and *C. mexicana*. This number is about 30 % less than our investigations.

Vegetation

The total cover of sample (R_t %) varied from 0.7 % to 56.5 % on fronds and from 1.4 % to 59.4 % on stolons (fig. 3). The mean total cover of samples recorded (RM %) was higher on stolons (21.8 %) than on fronds (18.5 %; tab. I).

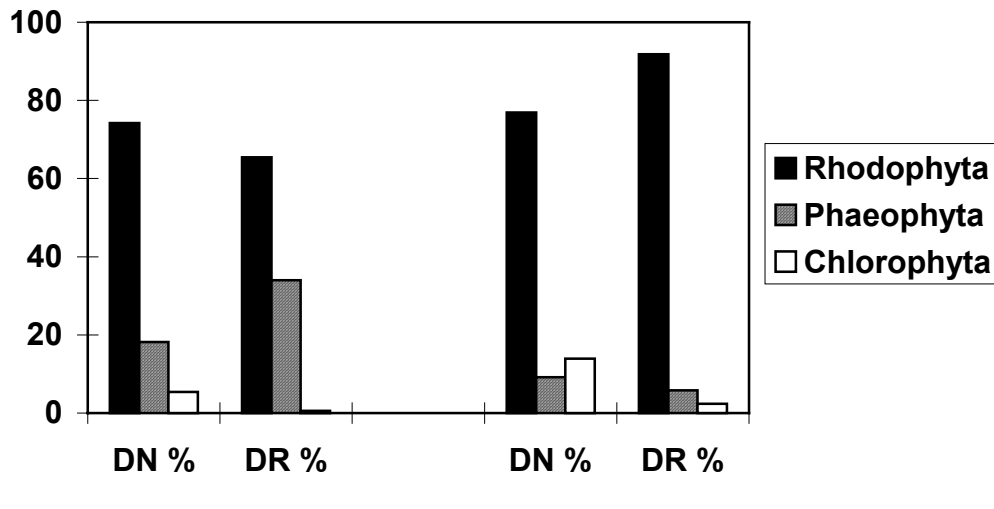


Figure 1. Qualitative (DN %) and quantitative (DR %) dominance of taxonomic groups in epiphytic flora on fronds and stolons of *Caulerpa taxifolia*.

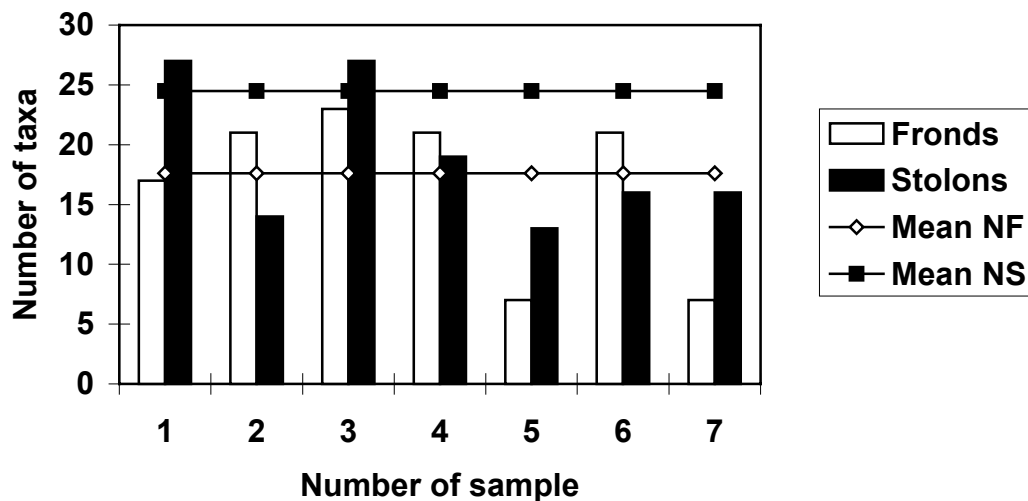


Figure 2. Total number of epiphytic algal taxa per sample and mean values of taxon number on fronds (mean NF) and stolons (mean NS) of *Caulerpa taxifolia*.

In the structural composition of epiphytic vegetation, the qualitative dominance (DN %) was dominated by the taxa of the ecological supergroups Phsl (36.4 %) and Ssl (38.5 %). The higher values of DN % were found in the morphofunctional group of filamentous algae (85.5 % and 75.4 %), both on fronds and stolons (fig. 4, 5).

The quantitative dominance (DR %) is dominated by the taxa of Rhodophyta (65.4 % and 91.8 %), by the taxa of ecological groups HP (54.4 %) and D (36.8 %), and by the taxa of calcareous encrusting algae (52.5 % and 60.8 %), both on fronds and stolons (fig. 2, 4, 5).

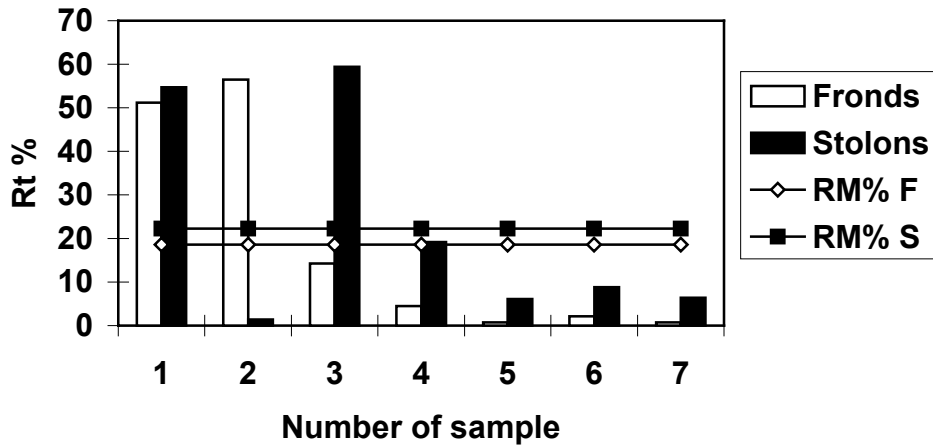


Figure 3. Total cover (Rt %) of epiphytic algal taxa per sample and mean total cover of epiphytic vegetation on fronds (RM % F) and stolons (RM % S) of *Caulerpa taxifolia*.

The structural composition of epiphytic vegetation was dominated for the qualitative dominance (DN %) by the taxa of Phsl ecological supergroup (36.4 %) and filamentous algae (85.5 %) on fronds, and the taxa of Ssl ecological supergroup (38.4 %) and filamentous algae (75.4 %) on stolons (fig. 4, 5).

The taxa of Rhodophyta (65.4 % and 91.8 %), of ecological groups HP (54.4 %) and D (36.8 %), and of calcareous encrusting algae (52.5 % and 60.8 %) dominated the quantitative dominance (DR %), both on fronds and stolons (fig. 1, 4, 5).

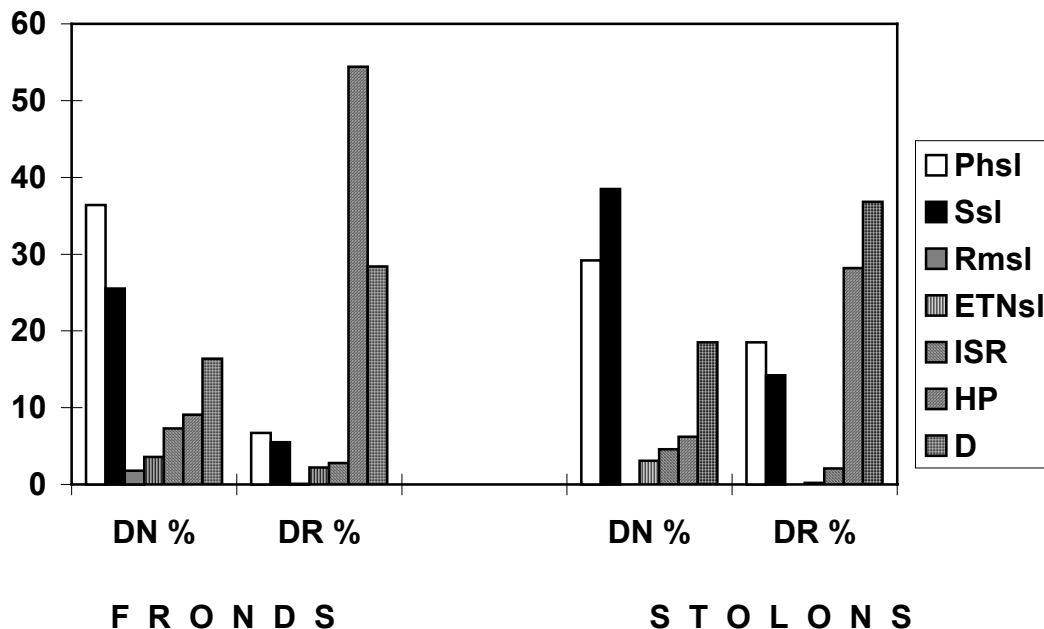


Figure 4. Qualitative (DN %) and quantitative (DR %) dominance of ecological supergroups (Phsl, Ssl, Rmsl, ETNsl) and groups (ISR, HP, D) in epiphytic vegetation on fronds and stolons of *Caulerpa taxifolia*.

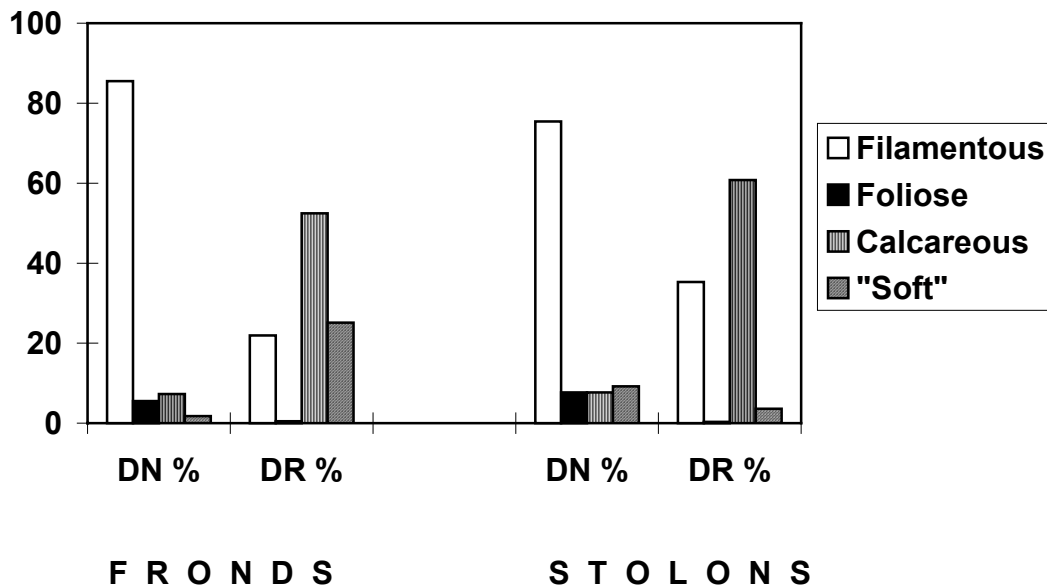


Figure 5. Qualitative (DN %) and quantitative (DR %) dominance of morpho-functional groups in epiphytic vegetation on fronds and stolons of *Caulerpa taxifolia*.

Some species of the epiphytic vegetation represented relatively high values of total mean cover (> 1.01 %) : *Pneophyllum fragile* (4.67 %), *Fosliella farinosa* (4.67 %) and *Myrionema orbiculare* (4.64 %) on fronds and *Pneophyllum fragile* (5.39 %), *Fosliella farinosa* (5.37 %), *Polysiphonia scopulorum* (2.17 %), *Titanoderma pustulatum* var. *pustulatum* (2.14 %) and *Lophosiphonia obscura* (2.14 %) on stolons (tab. II).

REFERENCES

- BOUDOURESQUE C.F., 1970. Recherches de bionomie analytique, structurale et expérimentale sur les peuplements benthiques sciaphiles de Méditerranée occidentale (fraction algale). *Thèse Doct. Etat*, Univ. Aix-Marseille II, France : 624 pp.
- BOUDOURESQUE C.F., 1971. Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Téthys* 3(1) : 79-104.
- BOUDOURESQUE C.F., 1984. Groupes écologiques d'algues marines et phytocénoses benthiques en Méditerranée nord-occidentale. *Giorn. Bot. Italiano* 118 (Suppl. 2) : 7-42.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., VERLAQUE M., KNOEPFFLER-PÉGUY M., 1992. The expansion of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Cryptogam. Algol.* 13 : 144-145.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., RIBERA M.A., BALLESTEROS E., 1995. Spread of the green alga *Caulerpa taxifolia* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean: possible consequences of a major ecological event. *Scientia Marina* 59 (Supl. 1) : 21-29.
- GIACCONE G., DI MARTINO V., 1997. Phytosociologie et écologie du genre *Caulerpa* Méditerranée. Actes de colloques: Dynamique d'espèces marines invasives : application à l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée (Paris, 13-15 Mars 1997) : 131-144.

Table II. List of determined epiphytic algal taxa on *Caulerpa taxifolia* fronds (F) and stolons (S) in Stari Grad Bay (Hvar Island). Algae are included in different taxonomic divisions (Rhodophyta, Phaeophyta, Chlorophyta), ecological supergroups (Phsl, Ssl, ETNsl) and groups (ISR, HP, D), and morphofunctional groups (MF) (Fol-foliose algae, Fil-filamentous algae, Calc-calcareous encrusting algae, Soft-"soft" encrusting algae). Each epiphytic algal taxa is determined by cover Ri % (in each sample) and by mean total cover RMi % (at the end of Table).

Study area		STARI GRAD BAY - HVAR ISLAND															
Number of sample		1		2		3		4		5		6		7		Total	
Date of sampling		01.05.98		13.04.98		13.04.98		10.04.98		30.10.97		30.10.97		31.10.97		RMi%	
Depth of sampling (m)		1		3		9		12		2.5		3		3			
Covering of <i>Caulerpa taxifolia</i> (%)		80		100		80		100		50		50		100			
MF	Part of <i>Caulerpa taxifolia</i> thalli	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S
	Ecological supergroup Phsl																
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Ceramium nodosum</i> (Kütz.) Harv.	-	-	-	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.01
Fil	<i>Chondria dasyphylla</i> (Woodw.) C.Ag.	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Chondria tenuissima</i> (Good. et Wood.) C.Ag.	-	-	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.1	-	-	0.1	0.1	0.1	-	0.07	0.39
Fil	<i>Chylocladia verticillata</i> (Light.) Blid.	0.1	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	-
Calc	<i>Corallina granifera</i> Elis. et Sol.	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Crouania attenuata</i> (C.Ag.) J.Ag.	0.1	-	0.1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	0.06	0.03
Fil	<i>Dipterosiphonia rigens</i> (Schousb.) Falken.	-	0.1	-	-	0.1	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-	0.1	0.03	0.04
Fil	<i>Falkenbergia rufolanosa</i> (Harv.) Schmitz- stadium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	-	0.03
Fil	<i>Griffithsia barbata</i> (Smith) C.Ag.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	0.01	0.01	
Fil	<i>Herposiphonia secunda</i> (C.Ag.) Ambr. f. <i>secunda</i>	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	0.01	0.03
Fil	<i>Herposiphonia secunda</i> (C.Ag.) Ambr. f. <i>tenella</i> (C.Ag.) Wynne	-	-	0.1	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01
Calc	<i>Jania rubens</i> (L.) Lam.	-	2.5	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	0.1	0.01	0.37
Fil	<i>Laurencia obtusa</i> (Huds.) Lam.	0.1	-	-	-	-	0.1	-	0.1	-	-	0.1	-	-	0.1	0.03	0.04
Fil	<i>Laurencia paniculata</i> (C.Ag.) C.Ag.	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Laurencia pinnatifida</i> (Huds.) Lamour.	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Polysiphonia fruticulosa</i> (Wulf.) Spreng.	-	-	-	0.1	0.1	-	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	0.04	0.01
Fil	<i>Spermothamnion repens</i> (Dillw.) Rosenv var. <i>repens</i>	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Spermothamnion repens</i> (Dillw.) Rosenv var. <i>variabile</i> (C.Ag.) Feldm.-Maz.	-	-	-	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	0.01	0.04
Fil	<i>Spyridia filamentosa</i> (Wulf.) Harv.	-	-	-	-	0.1	0.1	0.1	11	-	-	0.1	0.1	-	-	0.04	0.39
Calc	<i>Titanoderma pustulatum</i> (Lam.) Nägeli	2.5	15.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36	2.14
	PHAEOPHYTA																
Fol	<i>Dictyota dichotoma</i> (Hudson) Lam.	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Ectocarpus siliculosus</i> (Dillw.) Lyngb. var. <i>adriaticus</i> (Erceg.) Corm. et Furn.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Sphacelaria cirrosa</i> (Roth) C.Ag.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	-	-	0.07	0.07
Fil	<i>Sphacelaria fusca</i> (Huds.) S.F.Gray	-	0.1	-	-	2.5	2.5	0.1	0.1	-	-	0.1	-	-	0.1	0.39	0.40
	Ecological supergroup Ssl																
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Acrosymphyton purpuriferum</i> (J.Ag.) Sjöst.	0.1	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01
Nit	<i>Aglaothamnion byssoides</i> (Arn.) Boud. et Perr.-Boud.	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	0.06	0.03

Study area		STARI GRAD BAY - HVAR ISLAND															
number of sample		1		2		3		4		5		6		7		Tot	
MF	Part of <i>Caulerpa taxifolia</i> thalli	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S
Fil	<i>Ceramium codii</i> (Rich.) Maz.	-	0.1	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.04	0.09
Fil	<i>Dasya baillouviana</i> (Gmelin) Mont.	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.03
Fil	<i>Dasya hutchinsiae</i> Harv.	-	-	-	-	0.1	0.1	-	0.1	-	0.1	-	-	-	0.1	0.01	0.06
Fil	<i>Dasya ocellata</i> (Grat.) Harv.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	0.01	0.01	
Fil	<i>Griffithsia phyllamphora</i> J.Ag.	-	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03
Fil	<i>Lejolisia mediterranea</i> Bornet	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	0.1	-	0.1	0.01	0.04	
Fil	<i>Lophosiphonia cristata</i> Falk.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.1	-	0.1	-	0.04
Fol	<i>Peyssonnelia rubra</i> (Grev.) J.Ag.	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Pleonosporium borrieri</i> (Smith) Nägeli	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	-	0.04
Fil	<i>Polysiphonia elongata</i> (Huds.) Spreng.	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Polysiphonia scopulorum</i> Harv.	-	-	-	-	2.5	-	2.5	15.0	-	-	-	0.1	-	0.1	0.71	2.17
Fol	<i>Rhodophyllis divaricata</i> (Stack.) Papen.	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Seirospora interrupta</i> (Smith) Schmitz	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Spermothamnion flabellatum</i> Born.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.01
Fil	<i>Spermothamnion johanis</i> G.Felm.-Maz.	-	-	-	-	0.1	2.5	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	0.03	0.03
	PHAEOPHYTA																
Fol	<i>Dictyota linearis</i> (C.Ag.) Grev.	-	-	-	0.1	0.1	-	0.1	-	0.1	-	0.1	0.1	-	-	0.06	0.03
	CHLOROPHYTA																
Soft	<i>Blastohysa polynorpha</i> Kjell.	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Cladophora coelothrix</i> Kütz.	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	0.01	-
Fil	<i>Pseudochlorodesmis furcellata</i> (Zan.) Börg.	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	0.03
Fol	<i>Flabellia petiolata</i> (Turra) Niz.	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
	Ecological supergroup RMsl																
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Polysiphonia sertularioides</i> (Grat.) J.Ag.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.01	-
	Ecological supergroup ETNsl																
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Erythrotrichia carnea</i> (Dillw.) J.Ag.	-	0.1	2.5	0.1	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.37	0.03
Fol	<i>Nitophyllum punctatum</i> (Stack.) Grev.	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.01
	Ecological group ISR																
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Acrochaetium daviesii</i> (Dillw.) Nägeli	0.1	-	-	0.1	-	-	-	0.1	-	-	0.1	0.1	-	-	0.03	0.04
Fil	<i>Ceramium diaphanum</i> (Light.) Roth	0.1	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.04	-
Fil	<i>Ceramium flaccidum</i> (Harv.) Ardiss.	-	-	2.5	0.1	-	-	-	-	-	0.1	0.1	2.5	0.1	-	0.39	0.39
Fil	<i>Stylonema alsidii</i> (Zan.) Drew	-	0.1	0.1	-	0.1	-	0.1	0.1	-	-	0.1	-	-	-	0.06	0.03
	Ecological group HP																
	RHODOPHYTA																
Calc	<i>Pneophyllum fragile</i> Kütz.	15.0	15.0	15.0	0.1	2.5	15.0	0.1	0.1	-	2.5	-	2.5	0.1	2.5	4.67	5.39
	PHAEOPHYTA																
Fil	<i>Cladosiphon mediterraneus</i> Kütz.	11.0	11.0	2.5	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.71	0.37
Fil	<i>Giraudia sphaclarioides</i> Dérb. et Solier	0.1	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.01
Fil	<i>Myriactula rivulariae</i> (Suhr.) J. Feldm.	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-
Soft	<i>Myrionema orbiculare</i> J.Ag.	15.0	2.5	15.0	0.1	2.5	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	4.64	0.39
	Ecological group D																

Study area		STARI GRAD BAY - HVAR ISLAND															
number of sample		1		2		3		4		5		6		7		Tot	
MF	Part of <i>Caulerpa taxifolia</i> thalli	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S
	RHODOPHYTA																
Fil	<i>Acrochaetium virgatulum</i> (Harv.) Bornet	-	-	-	-	0.1	2.5	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.01
Fil	<i>Chroodactylon ornatum</i> (C.Ag.) Basson	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Calc	<i>Fosliella farinosa</i> (Lam.) Howe	15.0	15.0	15.0	0.1	2.5	15.0	-	-	-	2.5	0.1	2.5	0.1	2.5	4.67	5.37
Fil	<i>Lomentaria chylocradiella</i> Funk	-	-	-	-	0.1	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	0.03	0.01
Fil	<i>Lophosiphonia obscura</i> (C.Ag.) Falken.	-	-	-	-	-	15.0	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.01	2.14
Fil	<i>Polysiphonia</i> sp. 1	-	0.1	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	0.1	-	0.1	-	0.04	0.03
Fil	<i>Polysiphonia</i> sp. 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.01	-
	PHAEOPHYTA																
Fil	<i>Feldmannia irregularis</i> (Kütz.) Hamel	-	-	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36	-
	CHLOROPHYTA																
Soft	<i>Bolbocoleon piliferum</i> Pringsh.	-	-	-	-	-	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.36
Fil	<i>Cladophora</i> sp.	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	-	-	-	0.1	-	0.1	0.03	0.07
Soft	<i>Entocladia viridis</i> Reinke	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Soft	<i>Phaeophylla dendroides</i> (Cro. et Cro.) Batt.	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Fil	<i>Rhizoclonium tortuosum</i> (Dillw.) Kütz.	0.1	-	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	0.07	0.01
Soft	<i>Ulvela lens</i> Cro. et Cro.	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01

MAZZELLA L., SCIPONE M.B., BUIA M.C., 1989. Spatio-temporale distribution of algal and animal communities in a *Posidonia oceanica* meadow. *Mar. Ecol.* 10 (2) : 107-129.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta* 14 : 415-426.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., CASSAR N., VAUGELAS J. de, ANTOLIĆ B., BALLESTEROS E., BELSHER T., CECCHERELLI G., CINELLI F., ORESTANO C., GRAU A.M., JAKLIN A., POU S., SANDULLI R., ŠPAN A., ZAVODNIK N., ŽULJEVIĆ A., 1998. Bilan et analyse de la situation de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée à la fin de 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiaverini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML Université de Nice-Sophia Antipolis publ. : 7-24.

PANAYOTIDIS P., 1980. Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'association *Posidonia oceanica*. *Thèse Doct. 3^o cycle Océanologie*, Univ. Aix-Marseille II, France : 213 pp.

ŠPAN A., ANTOLIĆ B., ŽULJEVIĆ A., 1998. The genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) in Adriatic sea. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Mer Médit.* 35 : 584-585.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanologica Acta* 17 : 659-672.

ŽULJEVIĆ A., ZAVODNIK N., ANTOLIĆ B., JAKLIN A., ŠPAN A. 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes Croates de la Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiaverini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML Université de Nice-Sophia Antipolis publ., France : 211-224.

FORAMINIFÈRES ÉPIPHYTES DE *CAULERPA TAXIFOLIA* DANS LA LAGUNE DU BRUSC (VAR - FRANCE)

N. VICENTE ¹, A.G. LARDEAU ¹, A. RIVA ² & J. DESCATOIRE ²

¹ C.E.R.A.M. Faculté des Sciences et Techniques Saint-Jérôme, 13397 Marseille cedex 20

² Institut Océanographique Paul Ricard, Ile des Embiez, 83140 Six-Fours-les-Plages

ABSTRACT

During the growth of *Caulerpa taxifolia* in the lagoon of Le Brusac, throughout the year, epiphytic organisms that are already present on *Cymodocea nodosa* were observed. They are: a common actinaria on *Cymodocea nodosa*: *Parastephanauge pauxi*, but above all a foraminifera: *Sorites variabilis*. This foraminifera of discoid form, has a calcareous whitish grey coloured test, that reaches very large dimensions (> 3 mm). Not very abundant in winter season, either on *C. nodosa* or on *C. taxifolia*, it proliferates in springtime on the fronds of *Caulerpa*, and does not break away or off, when the fronds develop necrosis. The density of *Sorites variabilis* may be very high on the upper face of the leaves. The occupation rate of the fronds of *C. taxifolia* by *S. variabilis* is incomparably greater than on *Cymodocea nodosa*. The *Sorites* as well other foraminifera live in symbiosis with unicellular algae, whose role is to supply to the host a supplement of carbon for the development of the test. Might *C. taxifolia* play a role of symbiote for *Sorites variabilis*, to feed it?

RÉSUMÉ

Au cours de la croissance de *Caulerpa taxifolia* dans la lagune du Brusac, il a été observé durant toute l'année des organismes épiphytes déjà présents sur *Cymodocea nodosa*. Il s'agit d'un actiniaire commun dans la lagune : *Parastephanauge pauxi*, mais surtout d'un foraminifère : *Sorites variabilis*. Ce foraminifère de forme discoïde possède un test calcaire de couleur blanchâtre qui peut atteindre de grandes dimensions (> 3 mm). Peu abondant en période hivernale, aussi bien sur *C. nodosa* que sur *C. taxifolia*, il se multiplie à la belle saison sur les feuilles de *Caulerpa*, et ne s'en détache pas, même si celles-ci se nécrosent. La densité de *Sorites variabilis* peut-être très importante sur la face supérieure des feuilles. Les taux d'occupation des feuilles de *Caulerpa taxifolia* par *Sorites variabilis* est incomparablement plus élevés que chez *Cymodocea nodosa*. Les *Sorites*, comme d'autres foraminifères, vivent en symbiose avec des algues unicellulaires dont le rôle est de fournir à l'hôte un supplément de carbone pour l'élaboration du test. *C. taxifolia* pourrait-elle jouer le rôle de symbiote pour *Sorites variabilis*, de l'alimenter ?

INTRODUCTION

Tout au long de l'année, des organismes épiphytes sont observés aussi bien sur les feuilles de *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers qui constitue la végétation principale de la lagune du Brusac que sur *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh implantée essentiellement dans un chenal de navigation à proximité d'un mouillage forain. Ces épiphytes appartiennent à divers groupes zoologiques mais il s'agit en majorité d'un foraminifère *Sorites variabilis* et d'un Cnidaire Anthozoaires : *Parastephanauge pauxi*.

Le foraminifère occupe tout l'espace offert par les feuilles de l'algue et de la phanérogame alors que le Cnidaire se fixe plutôt aux extrémités et n'est jamais aussi abondant. Pour lui les deux végétaux ne constituent que des supports au même titre que d'autres algues présentes dans la lagune, ou des organismes animaux comme les Spongiaires par exemple. Il n'en est pas de même pour *Sorites variabilis* qui semble contracter des liens beaucoup plus étroits avec l'algue et la phanérogame. Parallèlement des analyses de la faune vagile et de la macrofaune benthique ont été réalisées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les installations

Les observations et les prélèvements sont effectués à la fois dans le milieu naturel et dans des bacs installés à terre à l'extérieur et sous une serre de type agricole qui abrite un hall d'aquaculture (fig. 1).

L'eau de la lagune est pompée et alimente des bacs en PVC de type mésocosmes (capacité de l'ordre du m³) ou race-way. Ces bacs sont équipés d'une surverse munie d'un treillis de 2 mm de vide de maille. Ces bassins bénéficient de conditions différentes (tab. I).

Tableau I. Conditions d'expériences (situation des bacs, température, substrat et observations).

Bacs	Situation	Température	Substrat	Observations
A	Extérieur	Thermorégulée à 11°C	Sans	Bac expérimental <i>C. taxifolia</i>
B	Extérieur	Non thermorégulée	Sans	Bac de maintenance <i>C. taxifolia</i>
C	Extérieur	Thermorégulée à 11°C	Sans	Bac expérimental <i>C. taxifolia</i>
D	Sous serre	Non thermorégulée	Sédiment de la lagune (sablo-vaseux)	Bac expérimental avec <i>C. nodosa</i> et <i>C. taxifolia</i>
E				

La profondeur des bacs est de 0.4 m maximum. Dans les bacs dépourvus de sédiment (A, B et C), quelques stolons de *Caulerpa taxifolia* sont placés en contact direct avec le bac. Dans les bacs D et E dont le fond comporte du sédiment de la lagune sur une épaisseur de 5 cm avec toutes ses composantes, *C. taxifolia* peut implanter ses stolons et *Cymodocea nodosa* ses rhizomes.

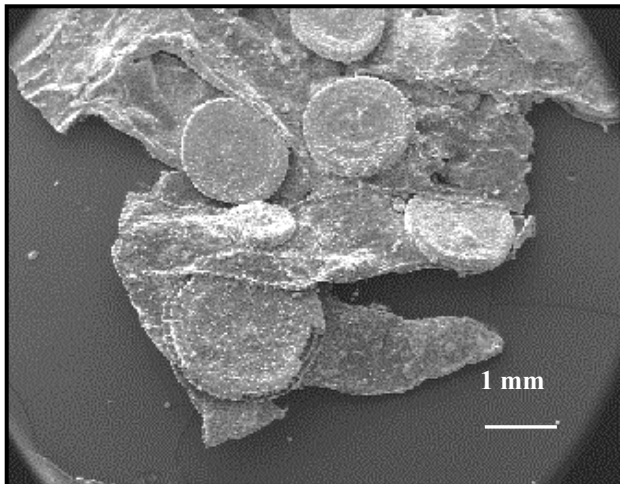


Figure 1. *Sorites variabilis* observés en microscopie à balayage. *Sorites variabilis* à l'extrémité d'une feuille de *Caulerpa taxifolia* dont on distingue bien les pinnules.

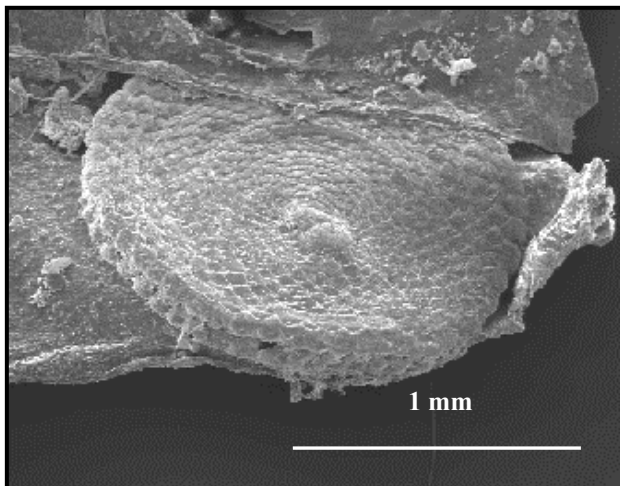


Figure 2. *Sorites variabilis* observés en microscopie à balayage. Détail d'un *Sorites variabilis* dont on distingue le *Proloculus* central et les logettes assemblées en anneaux.

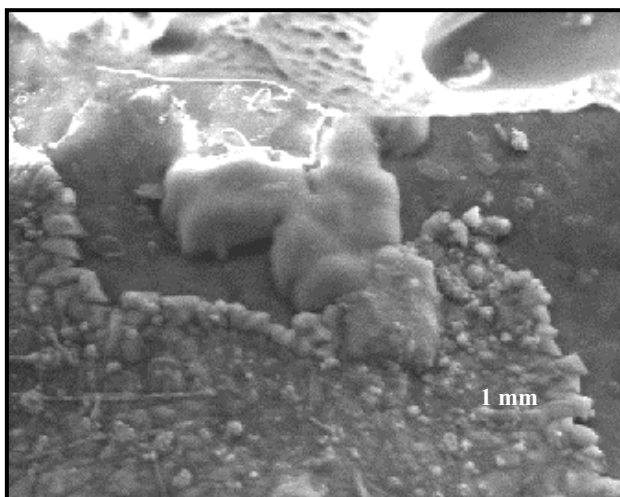


Figure 3. *Sorites variabilis* observés en microscopie à balayage. *Sorites variabilis* à l'apex d'une feuille de *Caulerpa taxifolia* (X 20).

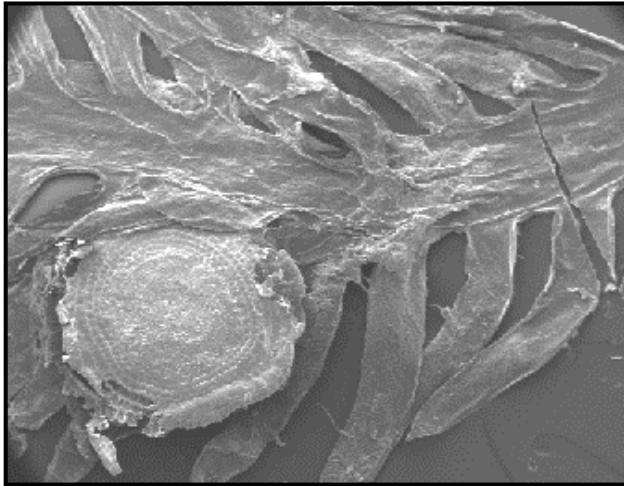


Figure 4. *Sorites variabilis* observés en microscopie à balayage. *Sorites variabilis* envoyant un pseudopode dans une feuille de *Caulerpa taxifolia*.

Les stolons de *C. taxifolia* sont marqués à l'aide de clips en matière plastique utilisés couramment en électricité, de couleurs différentes afin de suivre dans chaque bac l'évolution d'une trentaine de feuilles.

Les foraminifères

Sorites variabilis fait partie des foraminifères de grande taille (jusqu'à 3 mm). De forme discoïdale, il possède un test calcaire porcelané de couleur blanchâtre. Il présente un *proloculus* central autour duquel s'organisent des logettes assemblées en anneaux (fig. 2, 3, 4 et 5).

Ces foraminifères se reproduisent uniquement selon le mode asexué par schizogamie. Ils sont parfaitement adaptés à la vie littorale dans les secteurs exposés aux vagues où les gamètes libres ne peuvent survivre ou fusionner (DEBENAY *et al.*, 1996). Cela permet aux espèces comme *Sorites variabilis* de conserver une stabilité génétique adaptée à un environnement particulier. Ainsi, les schizontes conservent une partie des symbiotes de la cellule mère (ANDERSON & LEE, 1991).

Les paramètres

- la température de l'eau, la température de l'air, à l'extérieur et sous la serre sont mesurées quotidiennement ;
- la luminosité est mesurée au même moment à l'aide d'un luxmètre, à l'extérieur et sous la serre ;
- mensurations bimensuelles des stolons et des feuilles de *Caulerpa taxifolia* ;
- comptage des foraminifères épiphytes.

RÉSULTATS

Quelles que soient la température et la luminosité, les foraminifères sont présents sur les feuilles de *Cymodocea nodosa* et *Caulerpa taxifolia* aussi bien dans la lagune que dans les bacs et ce en toutes saisons. Les densités sont cependant plus fortes au printemps et

en été (tab. II). Ils sont également plus nombreux sur les échantillons de *C. taxifolia* maintenus sous serre.

La lagune du Brusac dont la profondeur n'excède pas 1 m, bien exposée à l'ensoleillement, est un site favorable au développement de *Sorites variabilis*. Ils persistent sur les feuilles de *C. taxifolia* même si celles-ci se nécrosent.

Le nombre d'individus croît avec la taille de la feuille (fig. 5). Mais rares sont les individus fixés sur les feuilles d'une taille inférieure à 20 mm. La densité peut être importante. Par exemple : observation en juin 1998 dans le bac extérieur thermorégulé : 169 individus sur une feuille de 11 cm, dont 168 sur la face supérieure et 88 situés sur le tiers antérieur (apex). La position des foraminifères sur l'algue traduit donc une préférence pour la face supérieure, et pour la zone apicale, au détriment du dernier tiers basal, et dans une moindre mesure au milieu (fig. 6). Aucune observation de *Sorites* n'a été faite sur le stolon. Les positions sont identiques chez *Cymodocea nodosa*.

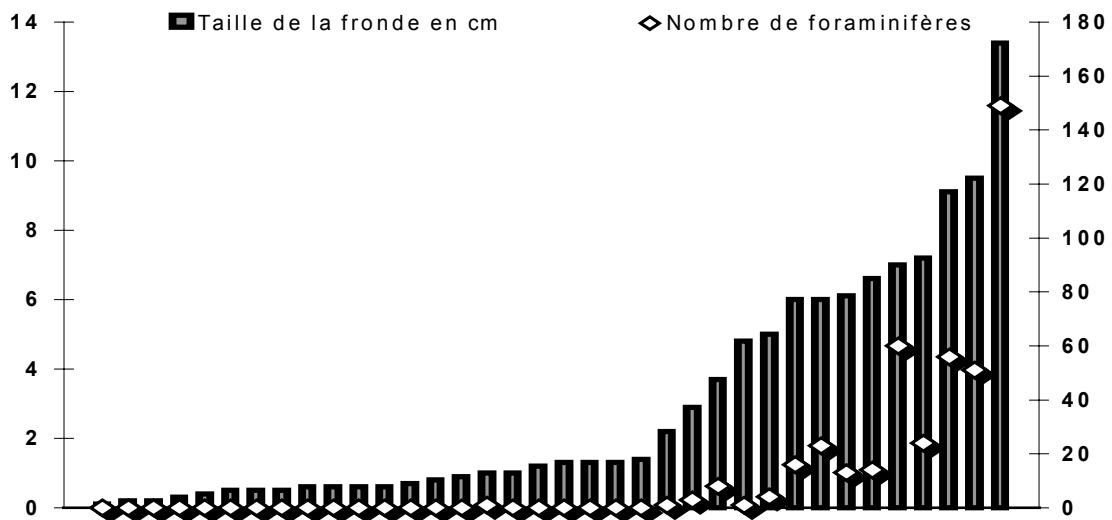


Figure 5. Quantité de foraminifères fixés en rapport avec la taille des feuilles de *Caulerpa taxifolia*.

La répartition par classes de taille (fig. 7) montre que les plus petites tailles de *Sorites variabilis* sont plus abondantes sur *Caulerpa taxifolia* sous serre. Cela traduit une multiplication intense des foraminifères en milieu contrôlé. Toutes les autres classes de taille sont particulièrement abondantes sur *Cymodocea nodosa* en milieu naturel. Ce sont les foraminifères de taille moyenne (2 à 3 mm) qui montrent la plus forte densité pour *C. taxifolia* en milieu naturel.

DISCUSSION

Les foraminifères *Sorites variabilis* sont normalement présents sur la végétation de la lagune du Brusac constituée par une pelouse de phanérogames marines (*Cymodocea nodosa*) et d'algues (Rhodoménacées). Leur prolifération sur *Caulerpa taxifolia*, aussi bien en milieu naturel qu'en milieu contrôlé sous serre, permet d'émettre plusieurs hypothèses.

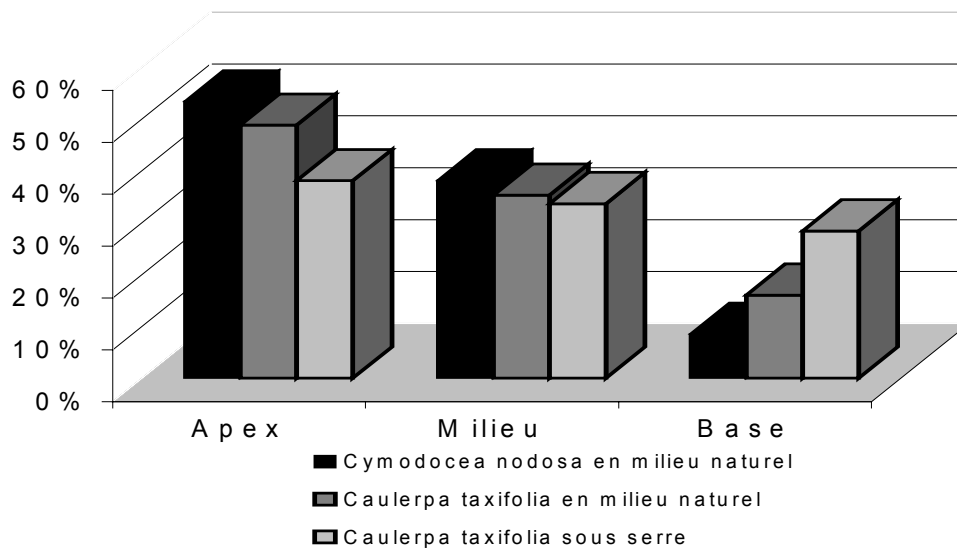


Figure 6. Répartition des foraminifères aux divers niveaux des feuilles.

Tableau II. Faune benthique et épiphyte de la Lagune du Brusac

Compartiment	Automne	Hiver	Printemps	Eté
<i>Cymodocea nodosa</i> - Feuilles	Foraminifera (<i>Sorites variabilis</i>) Cnidaria (<i>Parastephanauge pauxi</i>)	<i>Sorites variabilis</i>	- Eponges x - <i>Sorites variabilis</i> - Cnidaria - Gastropods	- Eponges - <i>Sorites</i> - Cnidaria
Rhizomes	- Eponges - Mollusca Bivalvia - Crustacea	- Eponges - Mollusca Bivalvia - Crustacea	Eponges Bivalvia Crustacea	- Eponges - Bivalvia - Crustacea - Ascidies
<i>Caulerpa taxifolia</i> - Feuilles	<i>Sorites variabilis</i>	<i>Sorites variabilis</i>	<i>Sorites</i> xx Cnidaria x Gastropods (<i>Aplysia</i>)	<i>Sorites</i> Cnidaria
- Stolons	0	0	<i>Sorites variabilis</i>	<i>Sorites</i> Cnidaria
Sédiment	- Annélides - Bivalvia	- Annélides - Bivalvia	Annélides Bivalvia Crustacea (Amphipoda)	Annélides Bivalvia Crustacea (Amphipoda)

Première hypothèse

Caulerpa taxifolia serait-elle symbiote de *Sorites variabilis* dans la lagune du Brusac ? Les travaux de LEUTENEGGER (1984), MÜLLER-MERZ & LEE (1976) montrent que les *Sorites* comme d'autres foraminifères vivent en symbiose avec des algues unicellulaires, des Dinoflagellés observés dans les régions tropicales chez *Sorites marginalis*, ou bien des Chlorophytes (*Chlamydomonas hedleyi*, *C. provasolii*).

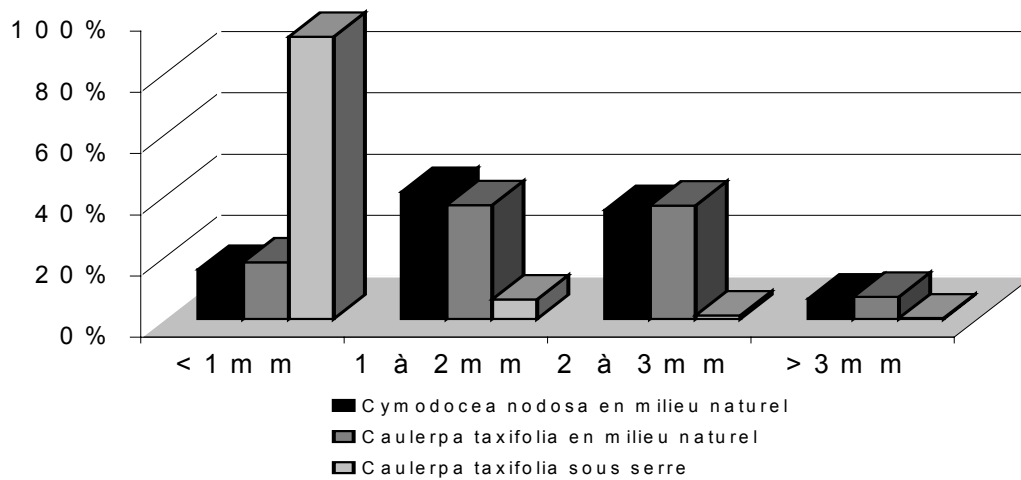


Figure 7. Dimensions des foraminifères et pourcentages de répartition sur *Cymodocea nodosa* et *Caulerpa taxifolia*.

Le rôle principal des algues symbiotes est de fournir à l'hôte un supplément de carbone organique produit par photosynthèse, en échange de quoi le foraminifère fournit un supplément d'azote, de phosphore et de vitamines par exemple. Il s'agit par conséquent beaucoup plus d'un mutualisme que d'une symbiose. Il arrive aussi que le foraminifère s'associe à des algues toxiques intégrées à l'organisme, qui ont pour effet de limiter les risques de prédation. De plus, il existe une certaine souplesse entre le foraminifère et l'endosymbiote. En effet, celui-ci conserve la possibilité de vivre hors de la cellule hôte (LEE & ANDERSON, 1991).

Par ailleurs, si les populations de foraminifères peuvent abriter des symbiotes différents dans des lieux ou à des époques différentes, il existe toutefois une préférence marquée pour une espèce particulière de symbiotes en milieu donné (LEE & LAWRENCE, 1990). De nombreux auteurs ont observé que la lumière favorise la calcification des foraminifères (DUGUAY, 1983). Cela tendrait à démontrer le rôle du symbiote dans la calcification.

Il convient de rappeler, d'autre part, que certaines algues tropicales utilisent la calcification comme moyen de défense. De ce fait, il est possible que *Sorites variabilis* puisse pomper les matériaux nécessaires à l'élaboration minérale de son test chez *C. taxifolia*. Dans ce cas, les zones les plus favorables au développement de ces foraminifères correspondraient à l'apex des feuilles en croissance. En effet, le plus souvent il existe une compétition pour le carbone organique entre la photosynthèse et la calcification, ce qui entraîne une diminution de celle-ci sous l'effet de la photosynthèse (KUILE *et al.*, 1989). Cette compétition est amoindrie dans les zones à forte teneur en carbone organique. Or les jeunes pousses possèdent trois fois plus d'azote et de carbone organique que les pousses matures. Ces jeunes pousses d'algues sont elles-mêmes en voie de calcification, elles sont cependant plus tendres, ce qui rend les différents matériaux plus accessibles. Les transferts hôte-symbiote ont été étudiés chez *Sorites marginalis* (LEE & ANDERSON, 1991). Ils ont montré que si les symbiotes sont

entourés d'une membrane épaisse en culture, ils ne possèdent qu'une membrane fine à l'intérieur de l'hôte. La membrane de l'algue est digérée par celui-ci au fur et à mesure de sa formation. En supposant que *C. taxifolia* puisse être symbiote de *S. variabilis*, cela pourrait expliquer la morphologie plus charnue des feuilles dans le bac C où il y a peu de foraminifères.

Seconde hypothèse

Caulerpa taxifolia, algue chlorophyllienne unicellulaire pourrait-elle assurer l'alimentation de *Sorites variabilis* ? La répartition préférentielle de *S. variabilis* sur les feuilles plutôt que sur les stolons, ainsi que leur grand nombre en été, semble démontrer que cette espèce est peu ou pas sensible aux fortes concentrations de caulerpényne. Au contraire, il semble que le foraminifère marque sa préférence pour les zones et les époques où la concentration en toxines est maximale (AMADE *et al.* 1994). Ce peut être une protection contre la prédation. Il s'avère que ces zones correspondent à la croissance apicale de *C. taxifolia*. Elles sont le siège de nombreuses réactions chimiques. Il semble que, comme chez d'autres algues (*Halimeda incrassata*), les jeunes pousses sont moins calcifiées et possèdent bien plus d'azote et de carbone organique que les pousses matures. Or certaines foraminifères benthiques, surtout les formes de grande taille, assimilent dix fois plus de carbone organique en consommant des algues unicellulaires qu'ils n'en absorbent grâce à la photosynthèse (LEE & BOCK, 1976).

Des études cytologiques et cytochimiques conduites par FABER & LEE (1991), ont montré que la plupart des foraminifères de grande taille renferment des enzymes digestives, telle que la phosphatase acide, dans leurs pseudopodes et dans leurs loges externes. Cette enzyme n'est pas inactivée par la caulerpényne (SUISSA *et al.*, 1994).

Une étude préliminaire en microscopie à balayage montre la présence de pseudopodes de *Sorites variabilis* implantés dans les feuilles de *C. taxifolia* (fig. 4). Ces pseudopodes pourraient prélever dans l'algue les nutriments nécessaires au foraminifère pour sa multiplication et l'élaboration de son test.

Troisième hypothèse

Caulerpa taxifolia serait-elle un simple support pour *Sorites variabilis* ? Il est fréquent que les foraminifères utilisent des algues et des plantes aquatiques comme support. Ils mènent une vie épicole. Les individus de *Sorites variabilis* profitent de la surface lisse de la face supérieure des feuilles de *C. taxifolia* pour se fixer. Leur répartition préférentielle sur le haut des feuilles leur permettrait de s'élever au-dessus du substrat et d'attendre les zones où le mouvement des eaux, facilite l'accès aux substances nutritives (LUTZE & THIEL, 1989). De plus, cet habitat est caractérisé par un meilleur ensoleillement favorable au développement des endosymbiotes des foraminifères (Chlorophycées). Par ailleurs, il semble que ces endosymbiotes soient insensibles aux toxines comme la caulerpényne. LEMÉE *et al.* (1994) étudiant la toxicité et le mode d'action de la caulerpényne sur deux modèles marins dont les microalgues ont montré que les chlorophycées sont certes affectées par la toxine, mais elles reprennent rapidement leur croissance. C'est pourquoi la survie de *S. variabilis* et de ses algues endosymbiotiques n'est pas remise en cause.

CONCLUSIONS

L'épiphytisme de *Caulerpa taxifolia* par les foraminifères de l'espèce *Sorites variabilis* constitue un fait exceptionnel observé pour la première fois depuis le début des études sur *Caulerpa taxifolia*. Cette présence originale d'un foraminifère adapté à la vie en milieu littoral pose le problème des relations entre *C. taxifolia* et certains organismes méditerranéens pouvant s'associer à cette algue tropicale et éventuellement l'utiliser pour leur développement et leur métabolisme.

Les hypothèses émises quant à la présence de *S. variabilis* sur les feuilles de *C. taxifolia* tout au long de l'année, dans la lagune du Brusç, sont complémentaires et méritent d'être approfondies. D'autre part, la dynamique des populations de *S. variabilis* continuera à être suivi tout au long des saisons.

Une étude biométrique fine permettra :

- de recenser les types de malformations que peuvent présenter les foraminifères (formes hélicoïdales, *proloculus* proéminent, changements de plan, formes en V, disque en vagues, etc.) et d'effectuer des comparaisons avec d'autres populations comme celles de la baie de Villefranche-sur-Mer où *Sorites variabilis* vit sur *Cymodocea nodosa*, et tenter, de déterminer les causes de ces malformations ;
- de décrire précisément l'évolution de la population de la lagune du Brusç et d'estimer la production de carbonate de calcium (ZOHARY *et al.*, 1980) ;
- de mettre en évidence le rôle éventuel de *C. taxifolia* dans la calcification du test de *S. variabilis*, par une étude plus poussée en microscopie électronique à balayage et par transmission, associée à des analyses cytoenzymologiques.

Remerciements : A Monsieur Joël LE CAMPION, Maître de Conférence à l'Université d'Aix-Marseille II, Centre Scientifique de Luminy et C.O.M. (Station Marine d'Endoume) a qui nous devons la détermination de *Sorites variabilis*.

BIBLIOGRAPHIE

AMADE P., LEMÉE R., PESANDO D., VALLS R., MEINESZ A., 1994. Variations de la production de caulerpéenne dans *Caulerpa taxifolia* de Méditerranée. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A, Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona publ., Spain : 223-231.

ANDERSON O.R., LEE J.J., 1991. Cytology and fine structure. *Biology of Foraminifera*. Lee J.J., Anderson O.R. eds., Academic Press, London : 7-40.

DEBENAY J.P., PAWLOWSKI J., DECROUEZ D., 1996. Les foraminifères actuels, 3ème cycle et recherche. *Ecologie / géologie*, Masson, Paris : 329 pp.

DUGUAY L.E., 1983. Comparative laboratory and field studies on calcification and carbon fixation in foraminifera - algal associations. *J. Foram. Res.* 13 : 252-261.

FABER W.W.Jr., LEE J.J., 1991. Feeding and growth in the foraminifer *Peneroplis planatus* (Fichtel and Moll) Montfort. *Symbiosis* 10 : 63-82.

KUILE B., EREZ T., PADANE J., 1989. Mechanisms for the uptake of inorganic carbon by two species of symbiont-bearing foraminifera. *Mar. Biol.* 103 : 241-251.

LEE J.J., BOCK W.D., 1976. The importance of feeding in two species of soritid foraminifera with algal symbionts. *Bull. Mar. Sci.* 26 : 530-537.

LEE J.J., ANDERSON R., 1991. Symbiosis in Foraminifera. *Biology of Foraminifera*. Lee J.J., Anderson R. eds., Academic Press : 157-222.

LEE J.J., LAWRENCE C., 1990. Endosymbiotic dinoflagellates from the larger foraminifera *Amphisorus hemprichii* and *Sorites marginalis*. *Endocytobiology IV*. Nardon P. et al. eds. INRA, Paris, France : 221-223.

LEMÉE R., PESANDO D., ISSANCHOU C., AMADE P., MEINESZ A., 1994. Toxicité et mode d'action de la caulerpénine sur deux modèles marins. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 281-286.

LEUTENEGGER S., 1984. Symbiosis in benthic foraminifera : specificity and host adaptations. *J. Foramin. Res.* 14 : 16-35.

LUTZE G.F., THIEL H., 1989. Epibenthic Foraminifera from elevated microhabitats. *J. Foramin. Res.* 19 (2) : 153-158.

MÜLLER-MERZ E., LEE J.J., 1976. Symbiosis in the larger foraminifera *Sorites marginalis*. *J. Protozool.* 23 : 390-396.

SUISSA A., LEMÉE R., AMADE P., PESANDO D., MEINESZ A., 1994. Données bibliographiques sur l'activité biologique de la caulerpénine et des terpènes voisins. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 189-193.

ZOHARY T., REISS Z., HOTTINGER L., 1980. Population dynamic of *Amphisorus hemprichii* (Foraminifera) in the Gulf of Eilat (Aquaba), Red Sea. *Eclogae geol. Helv.* 73 : 1071-1094.

PRESENT STATUS AND ANNUAL GROWTH VARIATIONS IN *POSIDONIA OCEANICA* COLONISED BY *CAULERPA TAXIFOLIA*: THE CASE OF IMPERIA (ITALY, NW MEDITERRANEAN)

Andrea PEIRANO

ENEA Marine Environment Research Centre, C.P. 316, 19100 La Spezia, Italy

Key words: Seagrasses, stress, growth, lepidochronology, internodal length

ABSTRACT

Caulerpa taxifolia was been found at Imperia since 1992. To evaluate the status of the *Posidonia oceanica* meadow a total of 16 rhizomes of the seagrass with and without *C. taxifolia* were collected in October 1998 at 12 m depth and their phenological characteristics were compared. Length, width and number of leaves were measured both in orthotropic and plagiotropic shoots. Growth rates of plagiotropic rhizomes were evaluated through lepidochronological and internodal length analysis. Differences were found between orthotropic and plagiotropic shoots due to the lower leaf length of plagiotropic shoots covered by the green alga. Moreover, orthotropic shoots with *C. taxifolia* showed leaves wider than shoots without it. Chronological analyses did not show differences between rhizomes either in growth rates or in the number of leaves produced per year in the period 1991-1997. In conclusion, even if the meadow did not show regression at pluriannual scale, weak signs of stress were evidenced.

RÉSUMÉ

Caulerpa taxifolia a été signalée à Imperia en 1992. Pour évaluer l'état de l'herbier à *Posidonia oceanica*, 16 rhizomes de *Posidonia oceanica* avec et sans *Caulerpa taxifolia* ont été récoltés en octobre 1998 à 12 m de profondeur. Les caractéristiques phénologiques (longueur, largeur et nombre des feuilles) des faisceaux orthotropes et plagiotropes ont été comparées, et l'accroissement des rhizomes plagiotropes a été évalué par la méthode lépidochronologique et la mesure des distances internodales. Les résultats ont mis en évidence que les faisceaux plagiotropes colonisés par *C. taxifolia* ont des feuilles plus courtes et que les faisceaux orthotropes avec l'algue ont des feuilles plus larges que les orthotropes sans l'algue. L'analyse lépidochronologique n'a pas mis en évidence des différences d'accroissement entre les rhizomes pendant la période 1991-1997. En conclusion, même si l'herbier, à l'échelle pluriannuelle, n'est pas à considérer en régression, de faibles signaux de souffrance ont été mis en évidence.

INTRODUCTION

The presence of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Liguria has been known since 1992 (see MEINESZ *et al.*, 1998 for a review), when patches of the alga were found in Imperia Porto Maurizio harbour (RELINI & TORCHIA, 1992). At present, *C. taxifolia* covers uniformly the whole harbour and colonises the seafloor in front of it, impacting

on the largest and deepest (> 30 m) *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow of the Liguria (BIANCHI & PEIRANO, 1995).

Although the spread of *Caulerpa taxifolia* has been monitored since its first appearance, the effects of the green alga on the *Posidonia oceanica* meadow are not known. The aim of the present work was to monitor the status of *P. oceanica* colonised and not colonised by the alga at two levels: at present, comparing the phenological characteristics of orthotropic and plagiotropic shoots, and at pluriannual scale, computing the growth rates of plagiotropic rhizomes.

MATERIAL AND METHODS

Samples were collected in front of Imperia Porto Maurizio in October 21st 1998 at 14 m depth. The sampling site was located during the CALIFA '98 cruise (BELSHER *et al.*, 2001). SCUBA divers removed randomly 16 plagiotropic rhizomes of *Posidonia oceanica* (9 covered by *C. taxifolia*, 7 without *C. taxifolia*) along a transect 30 m long. *P. oceanica* shoot density was estimated in three random, replicated quadrats of 1 m². In the laboratory one orthotropic and one plagiotropic shoot were detached from each rhizome and leaf length and width were measured using the techniques of GIRAUD (1977). To identify lepidochronological years plagiotropic rhizomes were dried at 60 °C and both lepidochronology (PIRC, 1983; PERGENT & PERGENT-MARTINI, 1990) and internodal length method were used (MARBA' & DUARTE, 1997). Differences between phenological parameters of rhizomes with and without *C. taxifolia* were assessed through t-test.

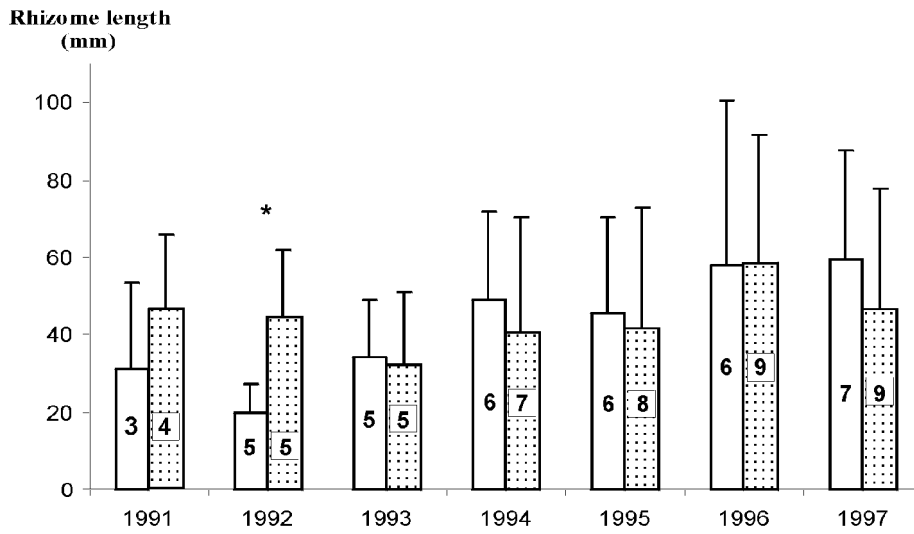
RESULTS

Caulerpa taxifolia formed patches 1 m² wide on the edge of the exposed mat, covering *Posidonia oceanica* shoots. Even if the patches covered 1-5 % of the meadow (SCUBA visual estimations) the real alga cover could reach 75 % (BELSHER *et al.*, 2001) beneath *P. oceanica* canopy.

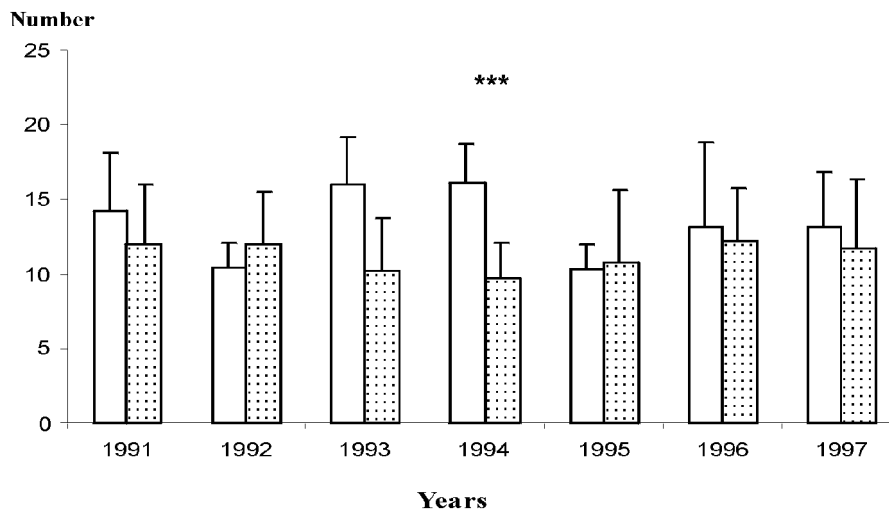
Comparisons between orthotropic and plagiotropic shoots showed differences in mean leaf length, due to a significant reduction of leaf length in plagiotropic shoots colonised by *C. taxifolia* (tab. I and II). Moreover, *P. oceanica* showed a significant increase in leaf width in orthotropic shoots covered by *C. taxifolia* while plagiotropic shoots did not show differences (tab. I and II).

Chronological analysis performed during the period 1991-1997 showed great variability both in rhizome growth and in number of leaves produced per year. No differences were found in rhizomes with and without *C. taxifolia* with only two exceptions (fig. 1).

Plagiotropic shoots - Mean annual growth



Plagiotropic shoots - Mean number of leaves



□ Without *C. taxifolia* ▨ With *C. taxifolia*

Figure 1. Plagiotropic rhizome means annual growth rates and number of leaves produced per year. Bars indicate standard deviations. The numbers of compared rhizomes are indicated in bold and significant t-test differences are indicated by asterisks (* = 0.05 > P > 0.01; *** = P < 0.001). The bars of the rhizomes with *Caulerpa taxifolia* dated 1991 do not have the same filling pattern as the others due to the fact that the alga was not found at Imperia before 1992.

Table I. Mean leaf length, width and leaf number of *Posidonia oceanica* orthotropic and plagiotropic shoots colonised and not colonised by *Caulerpa taxifolia*.

	Orthotropic shoots		Plagiotropic shoots	
	Without <i>C. taxifolia</i>	With <i>C. taxifolia</i>	Without <i>C. taxifolia</i>	With <i>C. taxifolia</i>
Leaf Length (mm)	225 ± 82	232 ± 49	183 ± 40	148 ± 39
Leaf Width (mm)	9.4 ± 0.6	10.5 ± 0.6	9.9 ± 0.5	10 ± 0.4
Leaf Number	7.3 ± 0.9	8.2 ± 0.7	9.7 ± 1.7	9.3 ± 1.7

Table II. Summary of t-test differences between *Posidonia oceanica* orthotropic and plagiotropic shoots covered and uncovered by *Caulerpa taxifolia*. (N.S.= not significant; * = 0.05 > P > 0.01; ** = 0.01 > P > 0.001; *** = P < 0.001).

Parameters	Comparisons between <i>Posidonia oceanica</i> shoots	
Leaf Length	Orthotropic ↔ N.S. ↔ Plagiotropic	Without <i>C. taxifolia</i>
	Orthotropic ↔ *** ↔ Plagiotropi C	With <i>C. taxifolia</i>
Leaf Width	Orthotropic ↔ N.S. ↔ Plagiotropic	Without <i>C. taxifolia</i>
	Orthotropic ↔ N.S. ↔ Plagiotropi C	With <i>C. taxifolia</i>
Leaf Number	Orthotropic ↔ ** ↔ Plagiotropic	Without <i>C. taxifolia</i>
	Orthotropic ↔ N.S. ↔ Plagiotropi C	With <i>C. taxifolia</i>

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The mean shoot density of the studied *Posidonia oceanica* bed was 226.4 ± 31.3 shoots·m⁻², a value within the range of Ligurian meadows in healthy condition (BIANCHI & PEIRANO, 1995).

Nevertheless, the decrease in leaf length is a typical responses of seagrasses subjected to light reduction (NEVERAUSKAS, 1988; GORDON *et al.*, 1994) and might be related to shading stress induced by the overgrowing *C. taxifolia* fronds.

Leaf width and the number of leaves per shoot both increased in orthotropic shoots covered by *C. taxifolia*. Even if WITTMANN (1984) stated that leaf width is indicative of the vegetative status of shoots and is positively correlated with growth, an increase of leaf width was observed by SAVINI *et al.* (1999) in one Ligurian meadow subjected to anthropic disturbance, and by VILLÈLE & VERLAQUE (1994, 1995) in the 'frontal' zones of *P. oceanica* meadow, where the seagrass and *C. taxifolia* were in contact.

In conclusion, if *Caulerpa taxifolia* had occurred in the studied zone since 1992 (MEINESZ *et al.*, 1998), she had not affected *Posidonia oceanica* growth in the past; at present, weak signs of stress both in orthotropic and plagiotropic *P. oceanica* shoots are

related to *C. taxifolia* colonisation and might be interpreted as a reduction of the vitality and of the colonisation ability of the seagrass.

Acknowledgments: I wish to thank T. BELSHER (Brest) for his invitation to join the CALIFA '98 cruise in Liguria, the Captain and the crew of the ship "Europe" for their courtesy and D. COROLLER, E. EMERY and H. GORAGUER (Brest) for their help in diving activities. Thanks are also due to C.N. BIANCHI, S. COCITO (La Spezia) and C. MORRI (Genova) for their critical reading of the manuscript.

REFERENCES

- BELSHER T., PEIRANO A., PUCCINI M., BOUTBIEN M., BLANC M., COROLLER D., COTTALORDA J.M., DAGAULT F., EMERY E., FUGAZZI P., GORAGUER H., LE GALL E., LUNVEN M., MARCFELD J. P., PELEAU M., PUCCI R., THIBAUT T., 2001. Acquisition d'éléments qualitatifs et quantitatifs sur l'expansion de l'algue *Caulerpa taxifolia* en 1998 (Alpes-Maritimes, Principauté de Monaco, Ligurie). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 33-55.
- BIANCHI C.N., PEIRANO A., 1995. Atlante delle fanerogame marine della Liguria : *Posidonia oceanica* e *Cymodocea nodosa*. ENEA, Centro Ricerche Ambiente Marino, La Spezia : 146 pp.
- GIRAUD G., 1977. Contribution à la description et à la phénologie quantitative des herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Thèse doctorat spécialité océanologie*, Univ. Aix-Marseille II, France : 150 pp.
- GORDON D.M., GREY K.A., CHASE S.C., SIMPSON C.J., 1994. Changes to the structure and productivity of *Posidonia sinuosa* meadow during and after imposed shading. *Aquat. Bot.*, 47: 265-275.
- MARBA' N., DUARTE C., 1997. Interannual changes in seagrass *Posidonia oceanica* growth and environmental change in the Spanish Mediterranean littoral zone. *Limnol Oceanogr.* 42 (5) : 800-810.
- MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., VAUGELAS J. de, 1998. Suivi de l'invasion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : situation au 31.12.97. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiaverini D., Vaugelas J. de eds., LEML-UNSA publ., France : 238 pp.
- NEVERAUSKAS V.P., 1988. Response of a *Posidonia* community to prolonged reduction in light. *Aquat. Bot.* 31 : 361-366.
- PIRC H., 1983. Below ground biomass of *Posidonia oceanica* (L.) Delile and its importance to the growth dynamics. *Proc Int. Symp. Aquatic Macrophytes, Nijmegen* : 177-181.
- PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., 1990. Some application of lepidochronological analysis in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Bot. Mar.* 33 : 299-310.
- RELINI G., TORCHIA G., 1992. Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* in acque italiane. *Doriana*, 6 (279) : 1-4.
- SAVINI D., PEIRANO A., BIANCHI C.N., 1999. Effects of anthropic disturbance on shoot structure of plagiotropic and hortotropic rhizomes of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in Monterosso Bay (NW Mediterranean). *Biol. Mar. Medit.* 6 (1) : 441-444.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1994. Incidence de l'algue introduite *Caulerpa taxifolia* sur le phytobenthos de Méditerranée occidentale. 1. L'herbier de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Fisrt int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie publ., France : 343-347.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

WITTMANN K.J., 1984. Temporal and morphological variations of growth in a natural stand of *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *P.S.Z.N. I: Ma. Ecol.* 5 (4) : 301-316.

IMPACT DE *CAULERPA TAXIFOLIA* SUR LES ESPÈCES ET ÉCOSYSTÈMES MÉDITERRANÉENS : LA COMPÉTITION AVEC *POSIDONIA OCEANICA*

Heike MOLENAAR

Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, Faculté des Sciences Parc Valrose, 06108 NICE Cedex 2, France

ABSTRACT

In 1995 at Cap Martin, 40 permanent quadrats were placed at two depths (6 m and 20 m) in the middle of *Posidonia oceanica* beds partially invaded by *Caulerpa taxifolia*. At the same time, at the two depths, 45 plagiotropic rhizome extremities of *Posidonia oceanica* situated at the edge of the bed, were marked. The same types of marks were placed in non-affected control sites. In the permanent quadrats at 6 m depth at Cap Martin, the rhizome density increased significantly from 1995 to 1997 (695 up to 1064) and then decreased significantly from 1997 to 1998 (1064 down to 518). The invasion rate of *Caulerpa taxifolia* increased significantly from 4 % in 1995 up to 60 % in 1998. In the control site, the rhizome density of *P. oceanica* did not increase significantly from 1995 to 1998. At the extremity of the plagiotropic rhizomes at 6 m depth, the mean number of live apices rose from 4 in 1995 to 14 in 1998. In the control site, this number rose from 3 in 1995 to 9 in 1998. The increase in the two sites is significant but when we compare the two sites there is no significant difference. In the permanent quadrats at 20 m depth at Cap Martin, the rhizome density of *P. oceanica* has not increase significantly since 1995 and the rate of *C. taxifolia* coverage has stayed constant. The number of new ramifications on the plagiotropic rhizomes in the affected site and that measured in the control site are not significantly different.

RÉSUMÉ

En 1995 au Cap Martin, 40 carrés permanents ont été mis en place à deux profondeurs dans des herbiers de *Posidonia oceanica* peu envahis par *Caulerpa taxifolia*. Parallèlement, 45 extrémités de rhizomes plagiotropes de *P. oceanica* en bordure d'herbier, à deux profondeurs, ont été baguées. Les mêmes marquages ont été mis en place dans des sites témoins. Dans les carrés permanents, à 6 m de profondeur au Cap Martin, la densité de faisceaux foliaires de *Posidonia oceanica*.m⁻² a significativement augmenté de 1995 à 1997 (695 à 1064), puis a significativement diminué de 1997 à 1998 (1064 à 518). Le taux de recouvrement par *Caulerpa taxifolia* dans le même site a augmenté significativement de 4 % en 1995 à 60 % en 1998. Dans le site témoin la densité de faisceaux foliaires de *P. oceanica* n'a pas augmenté de façon significative depuis 1995. A l'extrémité des rhizomes plagiotropes marqués à -6 m, le nombre moyen de faisceaux foliaires par rhizome dans le site atteint par *Caulerpa taxifolia*, est passé de 4 en 1995 à 14 en 1998. Dans le site témoin, ce nombre est passé de 3 en 1995 à 9 en 1998. Cette augmentation, au cours du temps, est significative dans chacun des sites, cependant, la comparaison entre les deux sites ne présente pas de différence significative. Dans les carrés permanents à 20 m de profondeur au Cap Martin, la densité de faisceaux foliaires de *P. oceanica*.m⁻² n'a pas augmenté de façon significative depuis 1995 et le taux de recouvrement par *Caulerpa taxifolia* est resté faible et constant. Le nombre de faisceaux foliaires nouvellement formés sur les rhizomes plagiotropes marqués au Cap Martin et celui mesuré dans le site témoin ne présentent pas de différence significative.

INTRODUCTION

La compétition entre la phanérogame marine endémique de Méditerranée *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile et l'algue tropicale introduite *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh est relativement récente et les travaux s'y rapportant sont ponctuels (GANTEAUME, 1994 ; VILLÈLE & VERLAQUE, 1995 ; CUNY *et al.*, 1994, 1995 ; CECCHERELLI, 1997 ; MOLENAAR, 1998). En effet, l'introduction de l'algue date de 1984 mais ce n'est qu'en 1990 qu'elle est entrée en contact direct avec les herbiers de *Posidonia oceanica* dans la zone d'étude au Cap Martin (Alpes-Maritimes, France) (MEINESZ & HESSE, 1991). Cette compétition fait intervenir des mécanismes physiques, chimiques et biologiques chez les deux plantes (BOUDOURESQUE, 1997). Il y a une compétition pour l'occupation du substrat, pour la lumière (MEINESZ *et al.*, 1993), pour les nutriments azotés et phosphatés dans le substrat et dans la colonne d'eau. Chacune des plantes élabore des substances chimiques spécifiques dont les effets de l'une sur l'autre ne sont pas encore connus.

La croissance et le développement de *P. oceanica* sont caractérisés par la présence de deux types d'axes : les axes orthotropes à croissance verticale et les axes plagiotropes à croissance horizontale. Les axes orthotropes permettent à la plante de ne pas être ensevelie sous les sédiments. Leur croissance dans des conditions normales est d'environ 1 cm.a⁻¹ pouvant augmenter lors des phénomènes de marées de sable ou lorsque des animaux bioturbateurs font augmenter le taux de sédimentation. Les axes plagiotropes à croissance horizontale permettent à l'herbier de s'étendre et de coloniser les espaces de substrat libre ; ils sont donc souvent situés en bordure des herbiers. Leur croissance moyenne est de 6 cm.a⁻¹. Les deux types d'axes sont capables de passer d'un mode de croissance à l'autre quand les conditions de sédimentation sont modifiées.

La présente étude concerne l'évolution dynamique de la densité, du développement et de la structure de parcelles d'herbiers de *Posidonia oceanica* peu atteints par *Caulerpa taxifolia* au moment des marquages effectués en février 1995. Cette évolution a été suivie en partie en 1997 (MOLENAAR, 1998) et dans la totalité des sites en 1998 au milieu de parcelles d'herbiers et en bordure d'herbiers sur les deux types d'axes de la plante. Deux profondeurs ont été choisies dans le site atteint et dans des sites où *C. taxifolia* était absente au moment du marquage.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sites d'étude

L'herbier de *Posidonia oceanica* choisi pour cette étude est situé à la pointe du Cap Martin (Alpes-Maritimes, France). Les parcelles d'herbiers choisies étaient peu atteintes par *Caulerpa taxifolia* au moment du marquage en 1995. Sa limite supérieure se situe à 3 m de profondeur et il est constitué par une mosaïque de touffes plus ou moins grandes, de densités variables, formant un herbier continu à partir de -10 m jusqu'à la limite inférieure située à -26 m. *Caulerpa taxifolia* y est présente de 2 m de profondeur jusqu'à 32 m en moyenne, sous forme de vastes prairies très denses sur du sable, sur de la matée morte de *P. oceanica* et sur les rochers. Jusqu'à la limite inférieure de *P. oceanica*, les

prairies de *C. taxifolia* s'infiltrent dans l'herbier, à l'exception de quelques touffes où l'algue s'arrête à une trentaine de centimètres.

Deux profondeurs ont été choisies au Cap Martin : un site à -6 m et un site à -20 m. L'herbier témoin à -6 m est situé au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes, France) et l'herbier témoin à -20 m est situé au Cap Ferrat (Alpes-Maritimes, France).

Carrés permanents au milieu de l'herbier

Dans chaque site, 20 carrés permanents de 25 cm x 25 cm ont été mis en place en février 1995 au milieu des parcelles d'herbier de *Posidonia oceanica* :

- 20 carrés à -6 m au Cap Martin,
- 20 carrés à -6 m au Cap d'Antibes,
- 20 carrés à -20 m au Cap Martin et
- 20 carrés à -20 m au Cap Ferrat.

Pour chaque carré permanent un relevé très précis de l'agencement des rhizomes a été effectué au moment du marquage en février 1995, en juillet 1997 à -6 m et en juillet 1998 aux deux profondeurs. Ces relevés nous ont permis de décrire la structure initiale de l'herbier et son évolution dynamique au cours du temps, principalement la tendance de son mode de croissance.

Le décompte du nombre de faisceaux foliaires dans les carrés permanents a permis de classer les parcelles des herbiers étudiés selon la classification de GIRAUD (1977) et la classification de PERGENT-MARTINI (1994).

Bagues individuelles en bordure de l'herbier

Dans chaque site, aux deux profondeurs d'étude, 20 à 25 extrémités de rhizomes plagiotropes ont été marquées en février 1995 par des bagues individuelles numérotées. Ces rhizomes plagiotropes ont volontairement été choisis en bordure de parcelles à proximité desquelles les stolons et les frondes de *Caulerpa taxifolia* s'arrêtaient à une distance moyenne de 30 cm.

Pour chaque rhizome marqué, un relevé précis de sa configuration a été effectué au moment du marquage en février 1995 et un premier relevé à -6 m a été effectué en juillet 1997. En juillet 1998, l'ensemble des rhizomes marqués a fait l'objet d'un relevé et d'une analyse. Ces relevés nous ont permis de mesurer la ramification en mode plagiotrope et la modification éventuelle du mode de croissance.

Tests statistiques de traitement des données

La linéarité ou la quasi-linéarité des fonctions cumulatives des fréquences ont été considérées comme indice de normalité. La vérification de l'homogénéité des variances est effectuée grâce au test F de Snedecor pour $\alpha = 0.01$. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test t de Student pour $\alpha = 0.01$.

RÉSULTATS

Densité initiale des herbiers

sites à -6 m

Au moment du marquage en février 1995, la densité moyenne de l'herbier témoin ($m_1 = 410$ faisceaux foliaires.m⁻²) était significativement inférieure à celle de l'herbier en début de colonisation par *Caulerpa taxifolia* ($m_2 = 685$ faisceaux foliaires.m⁻²). Après avoir vérifié l'homogénéité des variances ($F' = 1.03$, $F_{s(\alpha=0,01)} = 3,03$), la comparaison des moyennes m_1 et m_2 a montré que $Se = 118,77 < m_2 - m_1$ (t pour $\alpha = 0,01$). De ce fait, pour les deux sites à -6 m nous avons étudié séparément l'évolution de la densité des faisceaux foliaires entre le mois de février 1995 et le mois de juillet 1998.

sites à -20 m

En février 1995, la densité moyenne de l'herbier témoin ($m_1 = 238$ faisceaux foliaires.m⁻²) est significativement inférieure à celle de l'herbier atteint par *Caulerpa taxifolia* ($m_2 = 347$ faisceaux foliaires.m⁻²). En effet, après avoir testé l'homogénéité des variances ($F' = 2,57$, $F_{s(\alpha=0,01)} = 3,03$), la comparaison des moyennes a montré que $Se = 27,41 < m_2 - m_1$ ($\alpha = 0,01$). De ce fait, pour les deux sites à -20 m nous avons étudié séparément l'évolution de la densité des faisceaux foliaires entre le mois de février 1995 et le mois de juillet 1998.

Evolution de la densité des herbiers de février 1995 à juillet 1998

sites à -6m

En février 1995, la densité de l'herbier témoin du Cap d'Antibes varie de 128 à 704 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 410 ± 32 correspondant à un herbier dense (GIRAUD, 1977) et à une densité sub-normale inférieure (PERGENT-MARTINI, 1994). En juillet 1998, la densité varie de 208 à 736 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 495 ± 33 , correspondant à un herbier dense (GIRAUD, 1977) et une densité normale (PERGENT-MARTINI, 1994). Cependant en trois ans et demi de marquage, cette augmentation n'est pas significative (tab. I).

En février 1995, la densité de l'herbier atteint du Cap Martin varie de 416 à 944 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 685 ± 48 correspondant à un herbier dense (GIRAUD, 1977) et une densité normale (PERGENT-MARTINI, 1994). En juillet 1997, alors que les parcelles de *Posidonia oceanica* sont encore peu envahies (26 % de recouvrement par *C. taxifolia*), la densité moyenne est de 1064 ± 97 faisceaux foliaires.m⁻², correspondant à un herbier très dense (GIRAUD, 1977) et une densité sub-normale supérieure (PERGENT-MARTINI, 1994). Cette augmentation est statistiquement significative (MOLENAAR, 1998). En juillet 1998, alors que les parcelles sont davantage envahies (60 % de recouvrement par *C. taxifolia*), la densité varie de 128 à 928 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de seulement 518 ± 48 , correspondant à un herbier dense (GIRAUD, 1977) et une densité normale (PERGENT-MARTINI, 1994). Cette diminution de juillet 1997 à juillet 1998 est statistiquement significative (tab. I).

sites à -20 m

En février, 1995, la densité de l'herbier témoin du Cap Ferrat variait de 80 à 368 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 238 ± 17 correspondant à un herbier très clairsemé (GIRAUD, 1977) mais à une densité normale pour cette profondeur (PERGENT-MARTINI, 1994). En juillet 1998, la densité varie 16 à 368 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 183 ± 19, correspondant à un herbier très clairsemé mais à une densité normale pour cette profondeur. Cette diminution de la densité n'est pas significative (tab. II).

En février 1995, la densité de l'herbier peu atteint du Cap Martin (13 % de recouvrement par *C. taxifolia*), varie de 160 à 576 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 347 ± 27, correspondant à un herbier clairsemé (GIRAUD, 1977) mais à une densité normale pour la profondeur (PERGENT-MARTINI, 1994). En juillet 1998, alors que le recouvrement de l'herbier par *C. taxifolia* n'a pas changé (12 %), la densité varie de 144 à 624 faisceaux foliaires.m⁻² avec une moyenne de 375 ± 28, correspondant à un herbier clairsemé (GIRAUD, 1977) mais à une densité normale pour la profondeur (PERGENT-MARTINI, 1994). Cette augmentation n'est pas significative (tab. II).

Evolution de la structure des herbiers de février 1995 à juillet 1998

sites à -6 m

En février 1995, au milieu des herbiers à 6 m de profondeur au Cap Martin comme au Cap d'Antibes, les faisceaux foliaires portés par les rhizomes orthotropes sont prépondérants (tab. III et tab. IV). Ils représentent dans le site atteint (4 % de recouvrement par *C. taxifolia*) et dans le site témoin, 93 % de la totalité des faisceaux foliaires, avec un taux de ramification relativement faible, respectivement de 10 % et 8 % de l'ensemble des faisceaux foliaires orthotropes. Les faisceaux foliaires portés par les rhizomes à croissance plagiotrope ne représentent que 7 % de la totalité des faisceaux foliaires dans les deux sites mais leur taux de ramification est élevé : 41 % dans le site atteint et 50 % dans le site témoin.

En juillet 1998, les proportions des différents types de rhizomes ont quelque peu changé (tab. III et tab. IV). Les faisceaux foliaires orthotropes représentent 96 % de la totalité des faisceaux foliaires dans le site atteint (60 % de recouvrement par *C. taxifolia*) et 92 % dans le site témoin. Le taux de ramification des rhizomes orthotropes a diminué dans le site atteint, il est de 4 % et il a augmenté dans le site témoin où il s'élève à 17 %. Les faisceaux foliaires portés par les rhizomes à croissance plagiotrope représentent 6 % de la totalité des faisceaux foliaires dans le site atteint et 8 % dans le site témoin. Leur taux de ramification reste élevé, il est respectivement de 40 % et de 58 %.

Ces résultats montrent qu'entre 1995 et 1998, le nombre de faisceaux foliaires orthotropes, le nombre de faisceaux foliaires plagiotropes ainsi que les taux de ramification, ont diminué dans le site atteint dont le taux de recouvrement par *C. taxifolia* passe de 4 à 60 %. Par ailleurs, dans le site témoin ces valeurs ont augmenté pendant la même période.

sites à -20 m

En février 1995, au milieu des herbiers situés à 20 m de profondeur au Cap Martin comme au Cap Ferrat, les faisceaux foliaires portés par les rhizomes orthotropes sont prépondérants (tab. V et tab. VI). Ils représentent dans le site atteint (13 % de recouvrement par *C. taxifolia*) et dans le site témoin, respectivement 94 % et 90 % de la totalité des faisceaux foliaires. Les taux de ramification des rhizomes orthotropes sont relativement faibles mais néanmoins plus élevés qu'à 6 m de profondeur, il est de 13 % dans le site atteint et de 10 % dans le site témoin. Les faisceaux foliaires portés par les rhizomes à croissance plagiotrope ne représentent respectivement que 6 % et 10 % de la totalité des faisceaux foliaires mais leur taux de ramification est élevé : 65 % dans le site atteint et 45 % dans le site témoin.

En juillet 1998, les proportions des différents types de rhizomes ont quelque peu changé (tab. V et tab. VI). La proportion des faisceaux foliaires orthotropes a diminué dans les deux sites, elle est de 89 % dans le site atteint (12 % de recouvrement par *C. taxifolia*) et de 75 % dans le site témoin. Le taux de ramification des rhizomes orthotropes a diminué de presque moitié dans le site atteint, il est de 7 % et il a presque doublé dans le site témoin où il atteint 19 %. Le nombre de faisceaux foliaires portés par les rhizomes plagiotropes a augmenté entre 1995 et 1998, dans le site atteint comme dans le site témoin. Il a presque doublé dans le site atteint (11 %) et sa valeur est 2.5 fois plus élevée dans le site témoin (25 %). Le taux de ramification de ces rhizomes reste élevée dans les deux sites, il est respectivement de 60 % et de 58 %. Ainsi, dans le site témoin et dans le site atteint par *C. taxifolia*, la proportion des faisceaux foliaires orthotropes a diminué mais la proportion des faisceaux foliaires plagiotropes a augmenté.

Le site atteint est resté faiblement colonisé par *C. taxifolia*, les fluctuations notées de 1995 à 1998 à cette profondeur, ne peuvent donc pas être obligatoirement imputées à l'invasion par l'algue, d'autant que certaines fluctuations existent aussi dans le site témoin.

A -6 m comme à -20 m, les taux de ramification des rhizomes orthotropes augmentent dans les sites témoins et diminuent dans les sites atteints. Le taux de ramification des rhizomes plagiotropes est plus important à -20 m qu'à -6 m dans les sites atteints par *C. taxifolia* alors qu'elle est identique dans les sites témoins aux deux profondeurs.

Evolution du nombre moyen de faisceaux foliaires par rhizome plagiotrope marqué en bordure d'herbier

sites à -6 m

En février 1995, le nombre moyen de faisceaux foliaires présents à partir de la bague de marquage sur les extrémités des rhizomes plagiotropes, varie de 1 à 6 avec une moyenne de 2.7 ± 0.3 ($n = 25$) dans le site témoin et de 2 à 7 avec une moyenne de 3.7 ± 0.3 ($n = 20$) dans le site atteint par *Caulerpa taxifolia*. Ces deux valeurs ne présentent pas de différence significative.

En juillet 1997, ce nombre est passé à 9.5 ± 1.0 ($n = 22$), variant de 2 à 22, dans le site témoin et à 10.1 ± 1.0 ($n = 10$), variant de 6 à 15, dans le site atteint. Ces deux valeurs ne présentent pas de différence significative.

En juillet 1998, ce nombre est passé à 8.7 ± 1.2 ($n = 15$), variant de 3 à 18 dans le site témoin et à 14.3 ± 1.7 ($n = 4$), variant de 11 à 19 dans le site atteint. Ces deux valeurs ne présentent pas de différence significative.

Ainsi, depuis 1995, les rhizomes en bordure d'herbier ont formé 6 nouveaux rameaux en moyenne dans le site témoin et 10 dans le site atteint par *C. taxifolia* mais la différence n'est pas significative, ce qui est probablement dû au faible nombre d'échantillons retrouvés marqués dans le site atteint et qui fausse l'évaluation de la ramification. En effet, la présence de *C. taxifolia* à proximité des rhizomes marqués a entraîné une augmentation très importante du taux de sédimentation rendant impossible à retrouver les bagues de marquage enfouies sous près de 15 cm de sédiment compact. Sur toute la bordure de l'herbier atteint, l'ensemble des rhizomes plagiotropes (marqués et non marqués) ont modifié leur mode de croissance, ils se sont redressés et sont devenus des rhizomes presque orthotropes. En outre, ils ont développé un réseau très dense de racines profondément ancrées dans le substrat. Entre les feuilles vivantes de ces rhizomes redressés, il y a une accumulation de feuilles mortes de *Posidonia oceanica*, de petits cailloux et de fragments en épave de *C. taxifolia*. Ces expériences ont été renouvelées afin d'obtenir des résultats plus fiables dans le temps.

sites à -20 m

En février 1995, le nombre faisceaux foliaires par rhizome plagiotrope marqué varie de 1 à 5 avec une moyenne de 3.3 ± 0.2 ($n = 25$) dans le site témoin du Cap Ferrat et il varie de 2 à 6 avec une moyenne de 3.3 ± 0.3 ($n = 20$) dans le site atteint du Cap Martin. Ces deux valeurs ne présentent pas de différence significative.

En juillet 1998, dans le site témoin ce nombre varie de 5 à 28 avec une moyenne de 14.4 ± 3.2 ($n = 12$) et dans le site atteint par *C. taxifolia* il varie de 2 à 18 avec une moyenne de 7.7 ± 2.0 ($n = 7$). Ainsi, dans le site témoin les rhizomes plagiotropes ont formé en moyenne 11 nouveaux rameaux latéraux en trois ans et demi alors que dans le site atteint ils n'ont formé que 5 nouveaux rameaux latéraux. Dans le site témoin, ce nombre est donc 2 fois plus important que dans le site atteint mais la différence n'est pas statistiquement significative compte tenu du faible nombre de rhizomes marqués retrouvés en 1998. Nous avons réitéré ces expérimentations afin d'obtenir des résultats plus fiables et plus précis dans le temps.

Evolution de l'expansion de la prairie de *Caulerpa taxifolia* dans les herbiers de *Posidonia oceanica* marqués

site à -6 m

Le taux de recouvrement au sol par *Caulerpa taxifolia* dans les carrés permanents était de 4 ± 2 % en février 1995, de 26 ± 13 % en juillet 1997 et de 60 ± 9 % en juillet 1998. En juillet 1997 (MOLENAAR, 1998) et en juillet 1998, au moment du relevé des rhizomes plagiotropes en bordure des herbiers, ceux-ci étaient ensevelis sous du sable dans le site témoin comme dans le site atteint. Dans le site témoin l'ensemblement variait de 2 à 5 cm alors que dans le site atteint il variait de 12 à 15 cm.

site à -20 m

Le taux de recouvrement par *Caulerpa taxifolia* dans les carrés permanents à -20 m était de $13 \pm 4 \%$ en février 1995 et de $12 \pm 3 \%$ en juillet 1998. Le taux d'envahissement à cette profondeur n'a donc pas varié depuis trois ans et demi c'est-à-dire en trois saisons de croissance de *C. taxifolia*. Cependant, il faut noter qu'en bordure de cet herbier, il y a une vaste étendue de sable d'environ 200 m^2 sur laquelle *C. taxifolia* s'est étendue considérablement depuis 1991. A cette date il n'y avait alors que quelques touffes éparses de 10 à 50 cm de diamètre de *C. taxifolia*. De plus, la limite inférieure de l'herbier de *Posidonia oceanica* se situe à 26 m de profondeur et en février 1995, la prairie de *C. taxifolia* ne dépassait pas cette limite. Or, en juillet 1998, le front de *C. taxifolia* a largement dépassé de plusieurs mètres la limite inférieure de *P. oceanica*. Dans les carrés permanents, comme au niveau des marquages individuels en bordure de l'herbier du site atteint, les rhizomes et les piquets de marquage étaient ensevelis sous 10 à 15 cm de sédiment en juillet 1998.

Tableau I. Densité moyenne au milieu des herbiers de *Posidonia oceanica*, en nombre de faisceaux foliaires.m⁻², au Cap d'Antibes et au Cap Martin à 6 m de profondeur. Test *F* de Snedecor de vérification de l'homogénéité des variances. Test *t* de Student de comparaison des moyennes.

	1 : Densité, février 1995 (n)	2 : Densité, juillet 1998 (n)	test de Snedecor entre 1 et 2 F' F _S (α=0,01)	test de Student entre 1 et 2 t pour (α=0,01)
CA6 Cap d'Antibes -6 m	410 ± 32 (20)	495 ± 33 (20)	1,05 l'homogénéité des variances est vérifiée (F'<F_S)	3,03 pas de différence significative Se=120,33 > m ₂ -m ₁
CM6 Cap Martin -6 m	685 ± 33 (20)	518 ± 48 (20)	2,11 l'homogénéité des variances est vérifiée (F'<F_S)	3,03 différence significative Se=150,32 < m ₂ -m ₁

Tableau II. Densité moyenne au milieu des herbiers de *Posidonia oceanica*, en nombre de faisceaux foliaires.m⁻², au Cap Ferrat et au Cap Martin à 20 m profondeur. Test *F* de Snedecor de vérification de l'homogénéité des variances. Test *t* de Student de comparaison des moyennes.

	1 Densité, février 1995 (n)	2 Densité, juillet 1998 (n)	test de Snedecor entre 1 et 2 F' F _S (α=0,01)	test de Student entre 1 et 2 t pour (α=0,01)
CF20 Cap Ferrat -20 m	238 ± 17 (20)	183 ± 19 (20)	1,35 l'homogénéité des variances est vérifiée (F'<F_S)	3,03 pas de différence significative Se=66,07 > m ₂ -m ₁
CM20 Cap Martin -20 m	347 ± 27 (20)	375 ± 28 (20)	1,12 l'homogénéité des variances est vérifiée (F'<F_S)	3,03 pas de différence significative Se=100,52 > m ₂ -m ₁

Tableau III. Evolution de la répartition des faisceaux foliaires dans l'herbiers de *Posidonia oceanica* au Cap Martin à 6 m de profondeur entre février 1995 et juillet 1998.

CAP MARTIN -6 m	Nombre moyen de faisceaux foliaires orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires.m ⁻²
Février 1995	636 ± 36 (20)	63 ± 18 (20)	49 ± 10 (20)	20 ± 6 (20)	685 ± 33 (20)
Juillet 1998	486 ± 48 (20)	17 ± 6 (20)	32 ± 12 (20)	13 ± 7 (20)	518 ± 48 (20)

Tableau IV. Evolution de la répartition des faisceaux foliaires dans l'herbiers de *Posidonia oceanica* au Cap d'Antibes à 6 m de profondeur entre février 1995 et juillet 1998.

CAP D'ANTIBES -6 m	Nombre moyen de faisceaux foliaires orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires.m ⁻²
Février 1995	383 ± 30 (20)	31 ± 8 (20)	27 ± 11 (20)	14 ± 7 (20)	410 ± 32 (20)
Juillet 1998	457 ± 35 (20)	76 ± 16 (20)	38 ± 11 (20)	22 ± 5 (20)	495 ± 33 (20)

Tableau V. Evolution de la répartition des faisceaux foliaires dans l'herbier de *Posidonia oceanica* au Cap Martin à 20 m de profondeur entre février 1995 et juillet 1998.

CAP MARTIN - 20 m	Nombre moyen de faisceaux foliaires orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires.m ⁻²
Février 1995	326 ± 25 (20)	41 ± 10 (20)	21 ± 9 (20)	14 ± 6 (20)	347 ± 27 (20)
Juillet 1998	334 ± 29 (20)	23 ± 6 (20)	40 ± 13 (20)	24 ± 7 (20)	375 ± 28 (20)

Tableau VI. Evolution de la répartition des faisceaux foliaires dans l'herbiers de *Posidonia oceanica* au Cap Ferrat à 20 m de profondeur entre février 1995 et juillet 1998.

CAP FERRAT - 20 m	Nombre moyen de faisceaux foliaires orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux orthotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de rameaux plagiotropes.m ⁻²	Nombre moyen de faisceaux foliaires.m ⁻²
Février 1995	214 ± 15 (20)	22 ± 6 (20)	23 ± 7 (20)	10 ± 4 (20)	238 ± 17 (20)
Juillet 1998	138 ± 20 (20)	26 ± 8 (20)	46 ± 14 (20)	26 ± 10 (20)	183 ± 19 (20)

DISCUSSION

L'augmentation entre 1995 et 1997, du nombre de faisceaux foliaires.m⁻² à 6 m de profondeur au Cap Martin dans une parcelle d'herbier encore peu envahie par *Caulerpa taxifolia* (26 % de recouvrement en 1997), peut s'expliquer par deux hypothèses. Soit *Posidonia oceanica* présente dans un premier temps, une réaction de défense en augmentant son taux de ramification. Une réaction de défense a déjà été suggérée par VILLÈLE & VERLAQUE (1995) qui montrent que *P. oceanica* fabrique davantage de cellules à tanins lorsqu'elle est en contact avec *C. taxifolia*. Soit il s'agit de la progression naturelle de ces parcelles d'herbier selon les conditions de ce milieu mais dans le site témoin où les conditions semblent être les mêmes, cette augmentation n'est pas observée.

Dans le même site à -6 m, de juillet 1997 à juillet 1998, le taux de recouvrement par *C. taxifolia* est passé de 26 % à 60 % et la densité de l'herbier de *P. oceanica* a diminué de moitié. Cette diminution rapide en une année peut être liée à l'augmentation rapide du taux de recouvrement par *C. taxifolia*, dans le même temps. A cette faible profondeur, les mouvements sédimentaires importants peuvent également être à l'origine de la baisse rapide de la densité de *P. oceanica*. En effet, à proximité immédiate des carrés permanents, certains rhizomes étaient complètement ensevelis sous une épaisse couche de sédiment fin mélangé à des stolons et des frondes de *C. taxifolia* plus ou moins nécrosées. Seules les extrémités des feuilles de *P. oceanica* dépassaient d'environ 15 cm

de ce substrat compact alors qu'à cette saison (juillet 1998), les feuilles de la phanérogame atteignent 90 cm dans les parcelles avoisinantes. Les feuilles ensevelies sont de couleur verte-brune et il est absolument impossible de dégager les rhizomes qui les portent, tant le sédiment est compact.

A plus grande profondeur (20 m), la situation est très différente. Le taux de recouvrement par *Caulerpa taxifolia* au sein des parcelles marquées de l'herbier n'a pas augmenté depuis 1995 malgré une extension importante de la prairie de Caulerpe, tout autour de l'herbier, sur les zones sableuses et au-delà de la limite inférieure de l'herbier de *Posidonia oceanica*. Les fluctuations structurales ne peuvent pas encore être reliées au recouvrement par *C. taxifolia* à cette profondeur.

Au milieu des parcelles d'herbiers de *P. oceanica* dans les sites témoins comme dans les sites atteints par *Caulerpa taxifolia*, la prédominance des rhizomes orthotropes est en accord avec les structures d'herbiers décrites par GIRAUD (1977). Cette prédominance reste significative même dans l'herbier atteint par *C. taxifolia* à 6 m de profondeur. Les taux de ramification de ces axes orthotropes diminuent aux deux profondeurs dans les deux sites atteints. Ainsi, dans les sites atteints par *C. taxifolia*, ces axes semblent mettre toute leur énergie dans la croissance verticale pour éviter l'enfouissement par le sédiment, phénomène visible par une augmentation de la taille des entre-nœuds.

Lorsque la bordure de l'herbier de *Posidonia oceanica* est au contact avec une prairie dense de *Caulerpa taxifolia*, VILLÈLE & VERLAQUE (1995) ont émis l'hypothèse que *P. oceanica* résistait davantage à l'envahissement grâce au balayage incessant des feuilles qui empêchent alors l'installation de l'algue et par la prédominance des rhizomes plagiotropes qui sont particulièrement robustes et ramifiés (MOLENAAR *et al.*, 1993).

Les herbiers de *Posidonia oceanica* sont constitués par des touffes juxtaposées, d'origines génétiques différentes (CAYE & MEINESZ, 1992), morphologiquement indiscernables les unes des autres mais présentant des caractéristiques de croissance et de développement différentes. Ainsi, il faut envisager des différences de comportement et de fonctionnement des différentes parcelles des herbiers de *P. oceanica* face à l'espèce invasive *Caulerpa taxifolia*.

CONCLUSIONS

Les parcelles de *Posidonia oceanica* marquées à 6 m de profondeur au Cap Martin sont, en juillet 1998, nettement modifiées par rapport à leur structure en 1995. La densité a significativement augmenté de 695 en 1995 à 1064 en 1997, puis a diminué significativement à 518 en 1998. Le taux de recouvrement par *Caulerpa taxifolia* (60 %) ne peut pas encore expliquer avec certitude les fluctuations constatées, il convient de tenir compte également de la variation du taux de sédimentation dont il est difficile de connaître l'origine.

Dans les parcelles marquées de l'herbier à -20 m, la densité est restée constante et le taux de recouvrement au sol par *C. taxifolia* est resté faible et stable de 1995 à 1998.

Néanmoins, la colonisation augmente rapidement sur les zones sableuses aux alentours de l'herbier et au-delà de sa limite inférieure. Les fluctuations constatées au niveau de la structure ne peuvent donc pas être associées à l'invasion par *C. taxifolia*.

Concernant les bordures des parcelles d'herbier, le processus de ramification des rhizomes plagiotropes semblent augmenter dans les sites atteints par *C. taxifolia* par rapport aux sites témoins. Ces résultats demandent à être précisés par une répétition des expérimentations.

Compte tenu des résultats actuels il est difficile de donner des conclusions sur la résistance à long terme des herbiers de *Posidonia oceanica* face à la colonisation de *Caulerpa taxifolia*. Seules des expérimentations suivies sur un long terme, dans des sites variés, sur des substrats différents et à des profondeurs différentes, permettront de bien décrire l'impact de l'espèce envahissante sur la structure des herbiers et aussi, d'approfondir les connaissances sur les processus de défense de certaines parcelles d'herbiers de *Posidonia oceanica*.

Remerciements : Je remercie Mademoiselle Giada FRANCI, Messieurs Jérôme BLACHIER, Laurent BURTAIRE, Laurent DELAHAYE, Serge GINESY, Frédéric JAFFRENOU et Thierry THIBAUT pour leur aide en plongée sous-marine lors du marquage en 1995 et lors des relevés en 1998.

BIBLIOGRAPHIE

BOUDOURESQUE C.F., 1997. Population dynamics of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean, including the mechanisms of interspecific competition. *Séminaire international "Dynamique d'espèces marines invasives : application à l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée"*. Lavoisier publ., Paris, France : 145-162.

CAYE G., MEINESZ A., 1992. Analyse des modalités de la multiplication végétative et de la reproduction sexuée de *Posidonia oceanica* et de ses conséquences sur la constitution génétique des herbiers. *Rapp. P.V. Réun. Comm. Int. Explor. Sci. Mer Médit.*, Monaco 33 : 32 pp.

CECCHERELLI G., 1997. Aspetti ecologici di *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (Chlorophyta, Caulerpales) : interazioni biotiche e fattori fisici e chimici. *Thèse de Doctorat*, Università degli Studi di Pisa, Italia : 138 pp.

CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1994. Les composés phénoliques hydrosolubles de *Posidonia oceanica* (phanérogame marine) dans une zone colonisée par la Chlorophyte introduite *Caulerpa taxifolia* (Alpes-Maritimes, France, Méditerranée). *First int. Workshop on *Caulerpa taxifolia**. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie publ., Marseille, France : 355-364.

CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1995. Water soluble phenolic compounds of marine phanerogam *Posidonia oceanica* in a Mediterranean area colonised by the introduced chlorophyte *Caulerpa taxifolia*. *Aquat. Bot.* 52 : 237-242.

GANTEAUME A., 1994. Suivi d'une station envahie par *Caulerpa taxifolia* sur la face est du Cap Martin (Alpes Maritimes, France). *First int. Workshop on *Caulerpa taxifolia**. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie publ., Marseille, France : 155-159.

GIRAUD G., 1977. Contribution à la description et à la phénologie quantitative des herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Thèse de Doctorat*, Université d'Aix-Marseille II, France : 150 pp.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanologica Acta* 14 : 415-426.

MEINESZ A., VAUGELAS J. de, HESSE B., MARI X., 1993. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in northern Mediterranean waters. *J. Appl. Phycol.* 5 : 141-147.

MOLENAAR H., 1998. Impact de *Caulerpa taxifolia* sur les espèces et écosystèmes méditerranéens : la compétition avec *Posidonia oceanica*. Mise en place de marquages permanents et résultats préliminaires. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., Marseille, France : 219-226.

MOLENAAR H., MEINESZ A., CAYE G., 1993. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. Survival and development in different morphological types of transplanted cuttings. *Bot. Mar.* 36 : 481-488.

PERGENT-MARTINI C., 1994. Impact d'un rejet d'eaux usées urbaines sur l'herbier à *Posidonia oceanica*, avant et après la mise en service d'une station d'épuration. *Thèse de Doctorat*, Université de Corse, France : 190 pp.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

INTERACTIONS ENTRE L'ALGUE *CAULERPA TAXIFOLIA* ET LA PHANÉROGAME *POSIDONIA OCEANICA* DANS LA BAIE DE MENTON : DONNÉES PRÉLIMINAIRES OBTENUES PAR IMAGERIE MULTISPECTRALE AÉROPORTÉE ET PHOTOGRAPHIE AÉRIENNE

Jean JAUBERT^{1,2}, John CHISHOLM¹, Danielle DUCROT³, Herbert RIPLEY⁴,
Lionel KHELIF³ & Laurent GENDRIER³

¹ Observatoire Océanologique Européen, Centre Scientifique de Monaco, Avenue Saint Martin,
MC 98000 Monaco, Principauté de Monaco

² Université de Nice, Laboratoire d'Ecologie Expérimentale, Campus Valrose, 06108 Nice
Cedex 2, France

³ CESBIO, 18 Avenue Edouard Belin, 31401 Toulouse Cedex 4

⁴ Hyperspectral Data International, One Research Drive, Dartmouth, N. S., Canada B2Y 4M9

ABSTRACT

Interactions between populations of the green alga *Caulerpa taxifolia* and the seagrass *Posidonia oceanica* were examined in the Bay of Menton (French Riviera). The current distribution of seagrass beds was compared with that of beds in 1988, prior to significant development of the alga. Aerial photographs taken by the National Geographic Service of France in 1988 documented the distribution of *P. oceanica* in 1988. Airborne multispectral imagery was used to map the distribution of seagrass beds in 1997. These comparative records indicate that *Caulerpa taxifolia* development did not cause *P. oceanica* regression in the Bay of Menton.

RÉSUMÉ

Une carte des herbiers de *Posidonia oceanica* et des gazons à *Caulerpa taxifolia* de la baie de Menton (Côte d'Azur) a été dressée, en 1997, à l'aide d'un spectrographe imageur aéroporté. Par ailleurs, l'étendue des herbiers de posidonies, en 1988, a été déterminée rétrospectivement par analyse de photographies aériennes de l'Institut Géographique National (IGN). La comparaison de ces documents montre que ces herbiers n'ont pas été endommagés et qu'ils se sont même légèrement développés. Ces faits indiscutables, et qui s'inscrivent dans la durée, contredisent les craintes et les prédictions pessimistes relatives à l'impact de *C. taxifolia* sur *P. oceanica*.

INTRODUCTION

Les premières interactions entre l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh et la phanérogame endémique de Méditerranée, *Posidonia oceanica* (L.) Delile ont été observées en 1990 dans la baie de Menton (MEINESZ & HESSE, 1991). Ces observations suggéraient que l'algue menaçait de détériorer, voire de détruire, les herbiers de posidonies. Par la suite, cette suggestion avait été étayée par des observations ponctuelles effectuées en milieu naturel (VILLELE & VERLAQUE, 1995).

MATERIEL ET METHODES

Un examen des interactions entre *Caulerpa taxifolia* et *Posidonia oceanica* a été effectué, dans la baie de Menton, sur une période de près de 9 ans. On a d'abord cartographié rétrospectivement les herbiers de posidonies en analysant des photographies aériennes de l'Institut Géographique National (IGN) prises en 1988 (Agence Régionale, B.P. 31143, 06203 Nice Cedex 03). Ensuite, les caractéristiques de ces herbiers (distribution, surface et contours) ont été comparées à celles des populations actuelles des deux espèces étudiées, déterminées à l'aide d'un spectrographe imageur aéroporté (Compact Airborne Spectrographic Imager, CASI ; voir MUMBY *et al.*, 1997 ; GREEN *et al.*, 1998 ; JAUBERT *et al.*, 1999 pour les questions de méthodologie).

Les images furent acquises, en septembre 1997, à partir d'un hélicoptère léger (Ecureuil). Lors des premières acquisitions, on avait utilisé 18 canaux spectraux sélectionnés dans un intervalle de longueurs d'ondes allant de 400 à 900 nm. L'altitude (1900 m) et la vitesse (80 nœuds) de l'hélicoptère avaient été fixées de façon à obtenir une résolution au sol de ± 2.5 m. Ces travaux préliminaires permirent d'identifier les canaux les plus intéressants et d'optimiser les réglages de façon à éviter la collecte de données redondantes. Ainsi, au cours des vols suivants, fut-il possible de diminuer le nombre de canaux et d'augmenter la résolution au sol : 0.5 m et 12 canaux à l'altitude de 365 m et à la vitesse de 65 nœuds ; 0.3 m et 6 canaux à l'altitude de 230 m et à la vitesse de 45 nœuds. Les images multispectrales furent corrigées : (a) pour les mouvements de roulis de l'hélicoptère en utilisant les données fournies par des gyroscopes ; (b) pour les variations de luminance liées à celles de l'éclairage ; et (c) pour l'atténuation et les modifications spectrales des signaux dues à la profondeur. Ces images furent ensuite géocodées en coordonnées UTM (Universal Transverse Mercator) à l'aide d'un GPS différentiel de précision métrique.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dans les conditions de l'étude (ciel sans nuages, mer calme et transparente), les populations de *Caulerpa taxifolia* et de *Posidonia oceanica* furent cartographiées jusqu'à la profondeur de 17 mètres.

L'analyse préliminaire des images de 3 zones particulièrement intéressantes montre :

(i) que *C. taxifolia* n'a pas altéré les herbiers de *P. oceanica* situés le long de la bordure est du Cap Martin et n'a pas empêché leur développement (fig. 1 & 3) ;

(ii) que dans la partie ouest de la baie de Menton, les surfaces colonisée par *C. taxifolia* n'ont pas progressé de façon significative depuis 1994, époque où de petites "colonies" éparses disséminées dans l'herbier de posidonies avaient été cartographiées (MEINESZ *et al.*, 1995) ;

(iii) que des posidonies se sont récemment implantées dans la partie centrale de la baie (observations vérifiées en plongée) au milieu d'une population mixte comprenant l'algue *C. taxifolia* et la phanérogame *Cymodocea nodosa* et que, dans ce

site, les touffes anciennes sont entourées par des zones d'exclusion où l'on ne trouve, ni cymodocées, ni caulerpes (fig. 2).

Cet ensemble de données montre clairement que les craintes et les prédictions relatives à l'impact négatif que *C. taxifolia* aurait sur *P. oceanica* ne sont pas concrétisées. Dans la baie de Menton, ces deux espèces ont coexisté pendant environ 9 ans. La durée de cette période et la représentativité du lieu sont suffisantes pour que l'on puisse conclure que l'algue ne menace pas la phanérogame.

BIBLIOGRAPHIE

GREEN E.P., MUMBY P.J., EDWARDS A.J., CLARK C.D., ELLIS A.C., 1998. The assessment of mangrove areas using high resolution multispectral airborne imagery. *J. Coastal Research* 14 : 433-443.

JAUBERT J., CHISHOLM J.R.M., DUCROT D., RIPLEY H.T., ROY L., PASSERON-SEITRE G., 1999. No deleterious alterations in *Posidonia* beds in the bay of Menton (French Riviera) eight years after *Caulerpa taxifolia* colonization. *J. Phycol.* 35 : 1113-1119.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol Acta* 14 : 415-426.

MEINESZ A., VAUGELAS J. de, COTTALORDA J.M., CAYE G., CHARRIER T., COMMEAU T., DELAHAYE L., FEBVRE M., JAFFRENNOU R., MOLENAAR H., PIETKIEWICZ D., 1995. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes françaises de la Méditerranée, situation au 31-12-1994. Ed. *Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, France* : 116 pp.

MUMBY P.J., GREEN E.P., EDWARDS A.J., CLARK C.D., 1997. Measurement of seagrass standing crop using satellite and digital airborne remote sensing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 159 : 51-60.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 1-9.



Figure 1. Aerial photograph of Cap Martin. Inset on the eastern side of Cap Martin, facing the Bay of Menton, indicates the location of the images show in figure 3. This location was one of the first sites known to be colonized by *Caulerpa taxifolia* in the north-west Mediterranean (Meinesz & Hess, 1991). It is also an area where it was feared that *C. taxifolia* would displace the seagrass *Posidonia oceanica*.

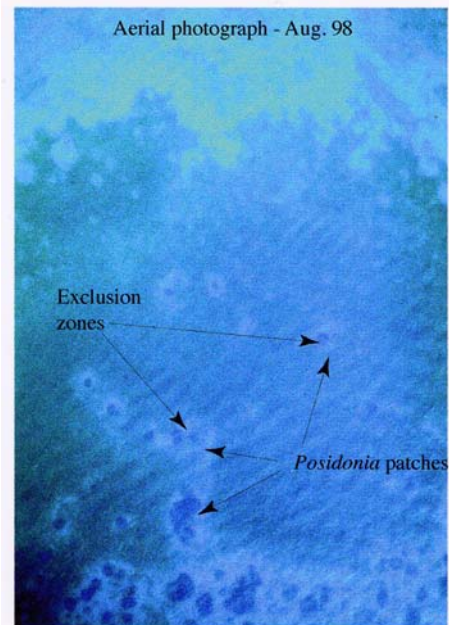


Figure 2. Mixed community of *Cymodocea nodosa* and *C. taxifolia* (■) stretching in front of the 2 storm-water drains that evacuate water from the city of Menton and surrounding hills. This mixed community seems now to show evidence of *de novo* colonisation by *P. oceanica*. If this is confirmed and continues, it might be argued that *C. taxifolia* fulfils a similar early successional role to *Caulerpa prolifera* in the development of seagrass beds.

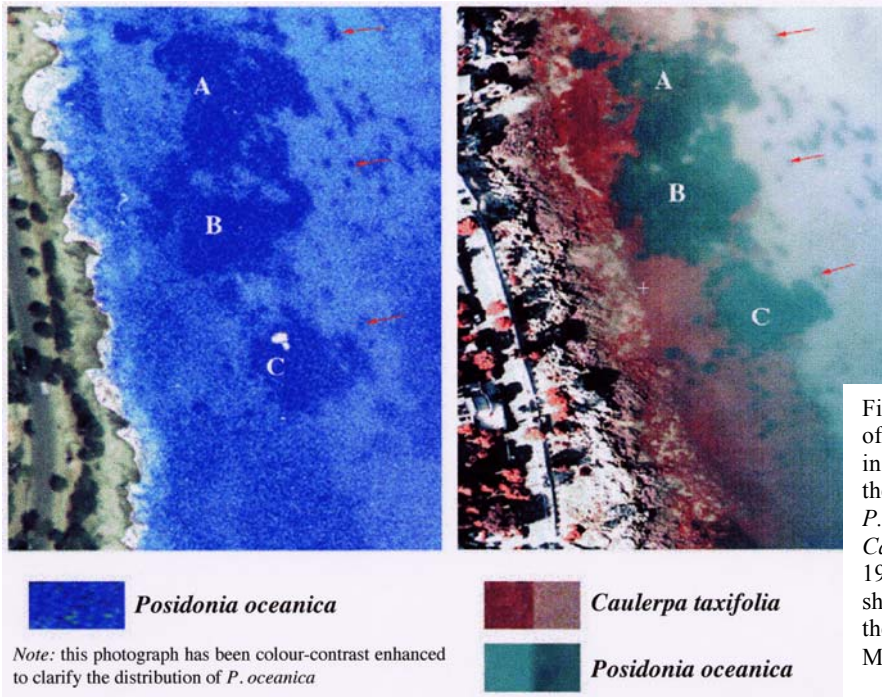


Figure 3. Distribution of *Posidonia oceanica* in 1998 compared with the distribution of both *P. oceanica* and *Caulerpa taxifolia* in 1997 at the location show in Figure 1 on the eastern side of Cap Martin

DYNAMICS OF FISH ASSEMBLAGE ALTERATIONS CAUSED BY THE INTRODUCED ALGA *CAULERPA TAXIFOLIA* NEAR MENTON (FRANCE)

Mireille HARMELIN-VIVIEN¹, Patrice FRANCOUR², Jean-Georges HARMELIN¹
& Laurence LE DIREAC'H¹

¹ Centre d'Océanologie de Marseille, UMR CNRS 6540, Université de la Méditerranée, Station Marine d'Endoume, 13007 Marseille, France

² Laboratoire d'Environnement Marin Littoral, Faculté des Sciences, Université de Nice-Sophia Antipolis, Parc Valrose, 06108 Nice Cedex 02, France

ABSTRACT

The influence of the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* on Mediterranean littoral rocky fish assemblages has been studied since 1992 near Menton (France, NW Mediterranean). More than 2000 visual censuses were conducted in colonized and reference sites during this period. A significant decrease in mean species richness, mean density and mean biomass of fish, persistent through time, was observed in the sites colonized by *C. taxifolia*. After a few years, two reference sites began to be invaded by the introduced tropical alga, which covered 24 % of the substrate between 0 and 10 m depth, and 72 % of the substrate in the 10-20 m depth range, in October 1997. It was then possible to monitor the dynamics of the substrate colonization by *C. taxifolia*, and the subsequent alterations in the fish assemblages. Some fish species, like the comber, *Serranus cabrilla*, were highly sensitive to alterations in their environment, and drastically decreased in density and biomass when the coverage by *C. taxifolia* exceeded 40 %. The present results suggest that littoral rocky fish assemblages are likely to be definitely altered when the *C. taxifolia* coverage reaches species specific threshold values.

RÉSUMÉ

L'influence de la colonisation des fonds méditerranéens par l'algue tropicale introduite, *Caulerpa taxifolia*, sur les peuplements de poissons du littoral rocheux a été étudiée depuis 1992 près de Menton (France, Méditerranée NO). Plus de 2000 relevés visuels ont été réalisés dans des sites colonisés par cette algue et dans des sites de référence entre 1992 et 1998. Une diminution significative de la richesse spécifique moyenne, de la densité et de la biomasse moyennes de poissons, persistante dans le temps, a été observée dans les sites colonisés par *C. taxifolia* par comparaison avec les sites de référence. Après quelques années, les deux sites de référence ont commencé à être colonisés par l'algue tropicale, qui, en octobre 1997, recouvrait 24 % de la surface du fond entre 0 et 10 m de profondeur, et 72 % entre 10 et 20 m. Il a donc été possible de suivre au cours du temps la dynamique de colonisation des substrats par *C. taxifolia* dans ces sites, et les modifications consécutives des peuplements de poissons. Certaines espèces de poissons, comme le serran commun, *Serranus cabrilla*, sont très sensibles à la modification de leur environnement, leur densité et leur biomasse diminuant fortement quand le recouvrement par *C. taxifolia* dépasse 40 %. Les résultats présentés suggèrent que les peuplements de poissons du littoral rocheux méditerranéen sont vraisemblablement définitivement modifiés quand le recouvrement en *C. taxifolia* atteint un seuil donné qui diffère selon les espèces.

INTRODUCTION

The tropical green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh was accidentally introduced into the Mediterranean Sea more than 14 years ago (MEINESZ & HESSE, 1991). This introduced alga is able to colonize all types of substrates occurring in coastal areas, such as rocks, boulders, sandy and muddy bottoms, and seagrass beds (BOUDOURESQUE *et al.*, 1992, 1995). The colonization of all coastal habitats by *C. taxifolia* induces deep changes in algal communities and seagrass beds (VERLAQUE & FRITAYRE, 1994; VILLÈLE & VERLAQUE, 1995), resulting in the homogeneity of type and structure of habitats available to fish (HARMELIN, 1996). Compared to autochthonous communities, *C. taxifolia* meadows present a less diversified and abundant invertebrate fauna, resulting in a decrease in potential food resources for fish (BELLAN-SANTINI *et al.*, 1994). The influence of the colonization of north-western Mediterranean rocky coasts by *C. taxifolia* on littoral fish assemblages has been studied since 1992 near Menton (France) (FRANCOUR *et al.*, 1994, 1995; HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1996, 1999). It was demonstrated that mean species richness, mean density and mean biomass of fish were lower in sites colonized by the introduced alga than on rocky shores and *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile seagrass beds. Other studies have demonstrated a modification of endoparasitism in the labrid species *Symphodus ocellatus* (Forsskål, 1775) (BARTOLI & BOUDOURESQUE, 1997), and an increase in green color types in most labrids inhabiting *C. taxifolia* meadows (GELIN *et al.*, 1998).

The ongoing colonization of the two reference sites by the introduced tropical alga since 1993 provided us with the opportunity to monitor the dynamics of the substrate colonization by *C. taxifolia*, and the subsequent modifications of the fish assemblages in these sites. In the present paper, the following questions will be addressed: (1) Was the dynamics of the colonization by *C. taxifolia* similar in the two depth ranges studied? (2) Was there any noticeable alteration in the organization of the fish assemblages during this period? (3) If so, what was the level of colonization by *C. taxifolia* after which these changes were observed? (4) Did all species react in the same manner to this alteration of their environment?

MATERIAL AND METHODS

Fish counts were performed by underwater visual censuses on transects, 20 m long x 2 m wide, following the method described in HARMELIN-VIVIEN *et al.* (1985) and FRANCOUR *et al.* (1995). The number and size of individuals were recorded for all the fish species observed on transects. Three size classes were determined for each species, small, medium and large, with the upper limit of each class corresponding to 1/3 TL max, 2/3 TL max, and the maximum total length (TL) reached by each species, as indicated in WHITEHEAD *et al.* (1984). Biomass was calculated using the predetermined weight-size relationships calculated for each species (FRANCOUR, 1990). Five sites were studied at Cap Martin, near Menton (France), located in shallow (2-10 m) and deep (11-20 m) coastal waters. Three sites, CT1, CT2 and CT3, were highly colonized by *Caulerpa taxifolia* since 1992, and two reference sites, REF.1 and

REF.2, which were unaffected by the introduced alga at the beginning of the study. Percentages of substrate coverage by *C. taxifolia*, other photophylic macroalgae, *Posidonia oceanica* and sand, were recorded on each transect. Two seasons were sampled each year, spring (May-June) and autumn (October-November). Each diver, well trained in fish visual census techniques, has performed counts in each site studied in order to minimize bias due to difference between observers. A minimum of 30 transects were carried out at each site and season, resulting in a total of 2004 visual censuses performed between May 1992 and June 1998.

Difference between data sets obtained during different periods of time were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), and when the null hypothesis of equality of means was rejected, the means were compared by the Student-Newman-Keuls test at $p < 0.05$.

RESULTS

Colonization of the reference sites by *Caulerpa taxifolia*

The two reference sites were free of any *Caulerpa taxifolia* in 1992 when the study started (tab. I). A few shoots of the introduced tropical alga were observed in spring 1993 at the deep reference site (REF.2) and the next autumn at the shallow reference site (REF.1). During the following years, the colonization by *C. taxifolia* was more rapid in the deep site than in the shallow one, and followed the seasonal fluctuations (higher cover percentage in autumn than in spring) already observed in the highly colonized sites CT1 to CT3 (HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1999). In 1997-1998 the percentage of substrate coverage by *C. taxifolia* fluctuated from 22 % in spring to 24 % in autumn at site REF.1, and from 44 % in spring to 72 % in autumn at site REF.2 (tab. I).

Modification of fish assemblages in reference sites

To determine if fish assemblages were influenced by the environmental change induced by the substrate colonization by *Caulerpa taxifolia*, fish species were separated into two groups according to their feeding habits and relationships with the substrate. Planktivorous species, which stay high in the water column by day to feed included, *Chromis chromis* (Linnaeus, 1758), *Spicara* spp., *Boops boops* (Linnaeus, 1758), *Oblada melanura* (Linnaeus, 1758), and *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758). Benthivorous species, closely related to the substrate for food and shelter, included the Muraenidae, Apogonidae, Serranidae, Mullidae, Sparidae (*Boops* and *Oblada* excepted), Labridae, Blenniidae and Gobiidae. As the percentage of substrate cover by *C. taxifolia* increased rapidly after spring 1995, we tested for difference in fish density between the two periods, spring 1992 to spring 1995, and autumn 1995 to spring 1998. At the shallow site REF.1, no significant difference in fish density was observed between these two periods for both the planktivorous and benthivorous species (tab. II). At the deep site REF.2, no difference was observed in the density of planktivorous species, but a significant decrease occurred in the density of benthivorous species ($p < 0.05$). The mean density of benthivorous fishes was 32 % lower after spring 1995 than before at the deep site REF.2.

Species specific reaction of the main benthivorous fish species

To look for individual reaction of fish species to changes in their environment, the 10 most abundant benthivorous species were tested for difference in density and biomass at site REF.2, before and after spring 1995 (tab. III and IV). Two serranids, three sparids and five labrids represented 88 % of the benthivorous fish density at site REF.1 and 84 % at site REF.2 over the 6 year period. No significant differences in density and biomass at site REF.2 were observed before and after spring 1995 in 6 species (*Serranus scriba* (Linnaeus, 1758), *Diplodus annularis* (Linnaeus, 1758), *D. vulgaris* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1817), *Symphodus roissali* (Risso, 1810), *S. rostratus* (Bloch, 1797) and *S. tinca* (Linnaeus, 1758)). For three species, *Serranus cabrilla*, *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758) and *Coris julis* (Linnaeus, 1758), a significant and steady decrease in density and biomass occurred after spring or autumn 1995 (fig. 1 to 3). Such a decrease was only observed in autumn for *D. sargus* (fig. 3). The density of this sparid species was higher in autumn than in spring, due to the abundance of small individuals near the coast at that season. The abundance of small *D. sargus* drastically decreased at site REF.2 after spring 1995. The density and biomass of the labrid *Symphodus ocellatus* were also lower after spring 1995, but the difference was statistically significant only for biomass, due to the high variance of data (tab. III and IV). For these four species, the steady decrease in density or biomass occurred when the percentage of substrate coverage by *C. taxifolia* exceeded 30 % to 40 % (fig. 1 to 3).

Table I. Mean percentage (\pm S.D.) of coverage by *Caulerpa taxifolia* in the two reference sites at Cap Martin, France. Site REF.1 was located in shallow waters (2-10 m) and site REF.2 in deeper waters (11-20 m). Each percentage represents the mean of at least 30 censuses. S = spring, A = autumn.

Year and season	Site REF.1	Site REF. 2
1992-S	0 (0)	0 (0)
1992-A	0 (0)	0 (0)
1993-S	0 (0)	0.6 (1.5)
1993-A	1.8 (3.2)	5.6 (6.3)
1994-S	0.3 (0.9)	7.8 (8.3)
1994-A	1.4 (3.1)	23.0 (13.7)
1995-S	0.7 (1.7)	15.4 (13.8)
1995-A	5.8 (8.9)	54.3 (24.2)
1996-S	4.8 (8.0)	29.2 (22.5)
1996-A	17.6 (16.6)	64.7 (22.2)
1997-S	12.9 (20.0)	41.5 (22.1)
1997-A	24.0 (24.7)	71.7 (17.1)
1998-S	21.7 (21.4)	44.0 (18.7)

Table II. Comparison of mean density (nb fish.10 m⁻², \pm S.D.) of planktivorous and benthivorous fish species at the shallow (REF.1) and deep (REF.2) reference sites at Cap Martin, before and after spring 1995 (S = spring, A = autumn, p = probability, n.s. = non significant difference, * = difference significant at $p < 0.05$).

	Site REF.1	Site REF.2
Planktivorous species		
1992-S/1995-S	20.56 (8.38)	37.22 (19.79)
1995-A/1998-S	24.17 (9.10)	40.72 (8.68)
p	0.480 n.s.	0.719 n.s.
Benthivorous species		
1992-S/1995-S	30.47 (6.06)	22.08 (5.46)
1995-A/1998-S	35.55 (8.58)	14.97 (4.12)
p	0.234 n.s.	0.030 *

Table III. Comparison of mean density (nb fish.10 m⁻² ± S.D.) of the ten most important benthivorous fish species at the deep reference site (REF.2) before and after spring 1995 (S = spring, A = autumn, *p* = probability, n.s. = non significant difference, < = difference lower after 1995, * = difference significant at *p* < 0.05, *** = difference significant at *p* < 0.001).

	1992-S/1995-S	1995-A/1998-S	<i>p</i>
Serranidae			
<i>Serranus cabrilla</i>	0.172 (0.033)	0.076 (0.031)	< ***
<i>Serranus scriba</i>	0.107 (0.056)	0.145 (0.019)	n.s.
Sparidae			
<i>Diplodus annularis</i>	0.295 (0.200)	0.448 (0.253)	n.s.
<i>Diplodus sargus</i> (autumn)	0.552 (0.071)	0.134 (0.031)	< ***
<i>Diplodus vulgaris</i>	0.040 (0.056)	0.010 (0.019)	n.s.
Labridae			
<i>Coris julis</i>	2.261 (0.392)	1.748 (0.664)	< *
<i>Symphodus ocellatus</i>	0.850 (0.387)	0.549 (0.306)	n.s.
<i>Symphodus roissali</i>	0.032 (0.028)	0.015 (0.012)	n.s.
<i>Symphodus rostratus</i>	0.217 (0.095)	0.236 (0.103)	n.s.
<i>Symphodus tinca</i>	0.205 (0.081)	0.201 (0.109)	n.s.

Table IV. Comparison of mean biomass (g.10 m⁻² ± S.D.) of the ten most important benthivorous fish species at the deep reference site (REF.2) before and after spring 1995 (S = spring, A = autumn, *p* = probability, n.s. = non significant difference, < = difference lower after 1995, * = difference significant at *p* < 0.05, ** = difference significant at *p* < 0.01).

	1992-S/1995-S	1995-A/1998-S	<i>P</i>
Serranidae			
<i>Serranus cabrilla</i>	9.292 (5.500)	2.522 (1.367)	< *
<i>Serranus scriba</i>	7.013 (2.596)	7.769 (3.618)	n.s.
Sparidae			
<i>Diplodus annularis</i>	3.199 (1.796)	6.223 (3.138)	n.s.
<i>Diplodus sargus</i> (autumn)	143.234 (75.407)	34.307 (9.189)	< **
<i>Diplodus vulgaris</i>	7.997 (11.982)	0.941 (1.513)	n.s.
Labridae			
<i>Coris julis</i>	60.192 (13.056)	44.314 (15.653)	< *
<i>Symphodus ocellatus</i>	5.590 (1.969)	3.194 (1.672)	< *
<i>Symphodus roissali</i>	0.335 (0.339)	0.103 (0.119)	n.s.
<i>Symphodus rostratus</i>	1.308 (0.468)	1.544 (0.775)	n.s.
<i>Symphodus tinca</i>	27.267 (11.744)	21.725 (10.454)	n.s.

DISCUSSION

Changes in fish assemblages induced by the colonization by *Caulerpa taxifolia* depend on the initial architecture, complexity and types of habitats invaded (HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1994, 1999; RELINI *et al.*, 1996, 1998). The introduced seaweed *C. taxifolia* is able to colonize substrates of various types, some with a high structural complexity, like *Posidonia oceanica* beds, rocky areas with photophilic algae and coralligenous bioherms, and others with a low structural complexity, like *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers and *Zostera noltii* Hornemann meadows, dead *Posidonia* 'matte', or sandy and muddy areas. The colonization of all these habitats by *C. taxifolia* results in the homogenization of macrohabitats and a decrease in the diversity of microhabitats offered to fish at a large spatial scale (fig. 4), leading to a lack of diversity in shelter and food resources.

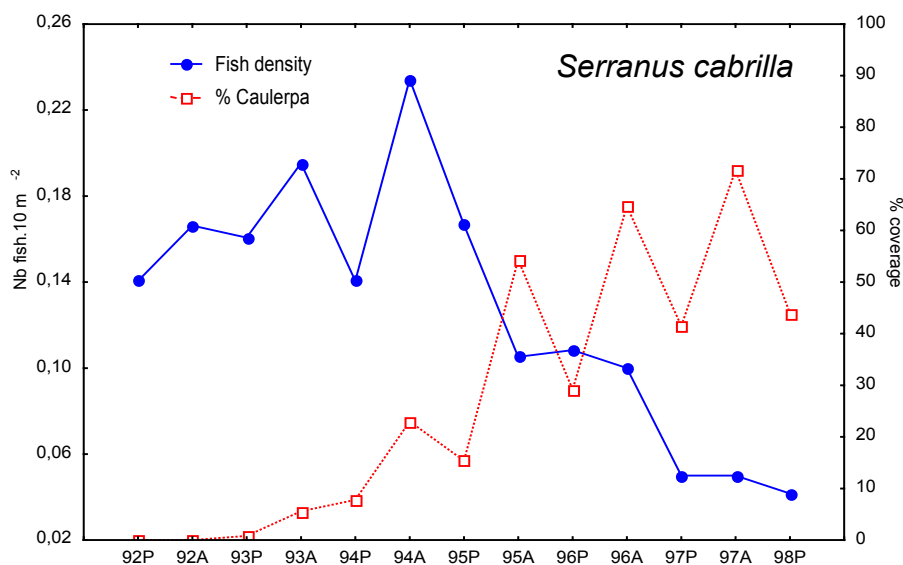


Figure 1. Variation in the density of *Serranus cabrilla* (nb fish.10 m⁻², solid line) at the deep reference site (REF.2) between 1992 and 1998, related to the increase in cover percentage of *Caulerpa taxifolia* (dashed line).

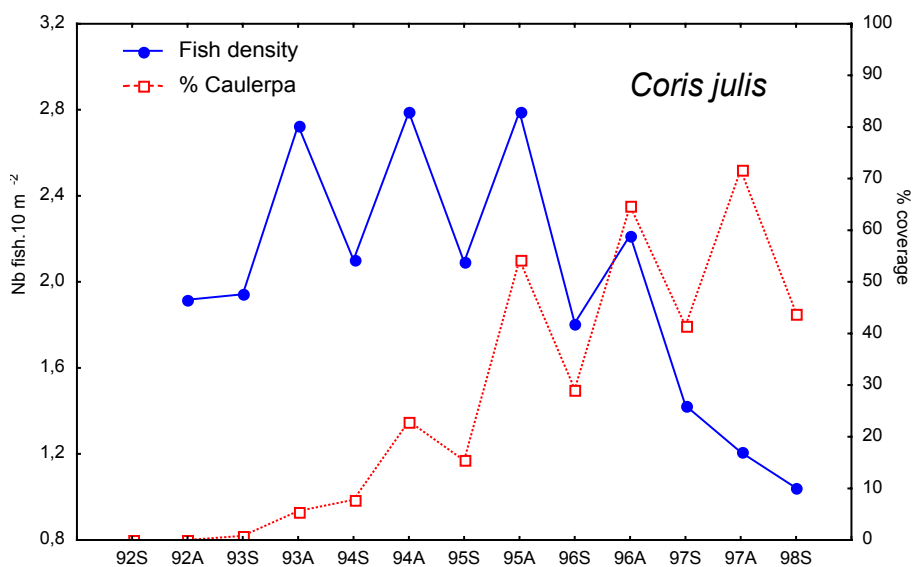


Figure 2. Variation in the density of *Coris julis* (nb fish.10 m⁻², solid line) at the deep reference site (REF.2) between 1992 and 1998, related to the increase in cover percentage of *Caulerpa taxifolia* (dashed line).

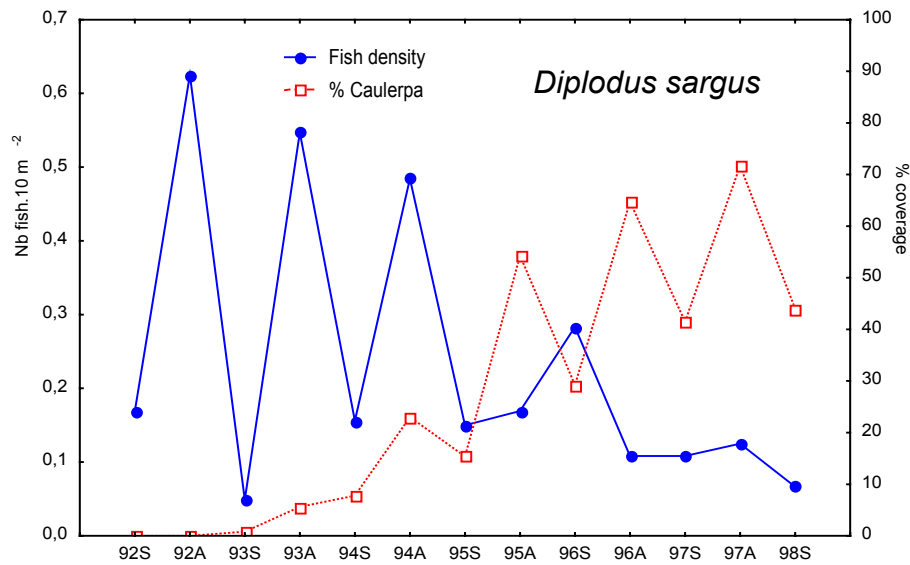


Figure 3. Variation in the density of *Diplodus sargus* (nb fish.10 m⁻², solid line) at the deep reference site (REF.2) between 1992 and 1998, related to the increase in cover percentage of *Caulerpa taxifolia* (dashed line).

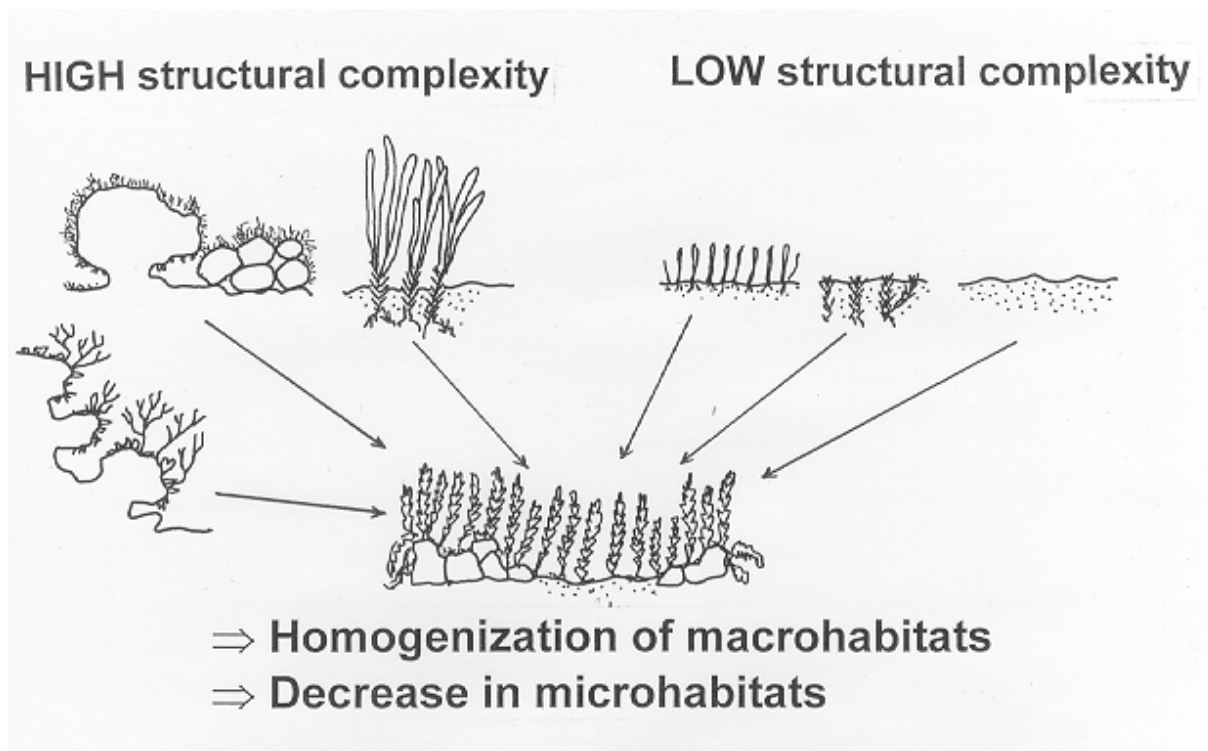


Figure 4. Changes in the nature and architecture of the main Mediterranean coastal habitats due to their colonization by the tropical alga, *Caulerpa taxifolia*. The colonization of all types of substrates results in the homogeneity of macrohabitats and a drastic decrease in the diversity of microhabitats offered to fish (from Harmelin-Vivien *et al.*, 1999).

The colonization of two reference sites by *C. taxifolia* in Cap Martin (France), provided the opportunity to study the dynamics of the changes in fish assemblages induced by the alteration of their environment. The substrate colonization by *C. taxifolia* started earlier and was more rapid at the deep site, between 11 and 20 m, than in the shallow site (2-10 m), probably due to weaker hydrodynamic conditions in deep waters. No change in fish assemblage was observed in the shallow site, where the coverage by *C. taxifolia* remained lower than 25 % by spring 1998. At the deep site, where the cover percentage by the tropical alga varied from 30 to 70 % since the autumn 1995, a significant decrease in the density of benthivorous fishes was observed after spring 1995. Among the 10 most abundant species of benthivorous fishes, 6 were not affected by this alteration of their environment, whereas the density and/or biomass of 4 species (*Serranus cabrilla*, *Diplodus sargus*, *Coris julis* and *Symphodus ocellatus*) significantly decreased. This decrease was consistent through time when the cover percentage by *C. taxifolia* exceeded 30 or 40 % depending on the species. As previously discussed (GELIN *et al.*, 1998), the comber *Serranus cabrilla* seemed to be particularly susceptible to the changes in its habitat, whereas the closely related species *S. scriba* (Linnaeus, 1758) was not affected. Such differences in the way species are influenced by *C. taxifolia*, are likely due to subtle differences in life cycle and requirements for food and shelter between species. Detailed studies on the biology and ecology of Mediterranean coastal fish species are needed to fully understand the patterns observed.

Depending on the initial composition and structure of the substrate colonized by *C. taxifolia*, two opposite patterns can be observed: (1) a general decrease in species richness, density and abundance of fish assemblages in areas with a high initial structural complexity (FRANCOUR *et al.*, 1994, 1995; HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1996, 1999), and (2) an increase in the species richness and density of the epibenthic fish assemblage in sandy areas which have a low initial structural complexity, as an upper strata is added to the substrate (RELINI *et al.*, 1996, 1998). Nevertheless, in sandy areas colonized by *C. taxifolia*, a decrease was observed in fish species associated with soft bottoms, such as flatfishes, mullids, triglids and sparids like *Lithognathus* and *Pagrus*, which are of high economic value. Thus, in rocky areas and seagrass beds, the colonization by *C. taxifolia* produces a drastic decrease in mean species richness, mean density and mean biomass of initial fish assemblages without any obvious alteration of the specific composition. On the other hand, on soft bottoms the upper strata added to the substrate by the colonization by *C. taxifolia* induces a profound alteration of the specific composition of the fish assemblage. In this case, there is an increase in labrid and sparid species, generally those associated with seagrass beds, and a decrease in all the fish species associated with soft bottoms.

Acknowledgements: This work was supported by the LIFE research program EC-DGXI “Control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea”.

REFERENCES

- BARTOLI P., BOUDOURESQUE C.F., 1997. Transmission failure of parasites (Digena) in sites colonized by the recently introduced invasive alga *Caulerpa taxifolia*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 154 : 253-260.
- BELLAN-SANTINI D., ARNAUD P.M., BELLAN G., VERLAQUE M., 1994. Résultats préliminaires sur la faune d'invertébrés du peuplement à *Caulerpa taxifolia* des côtes de Provence (Méditerranée nord-occidentale). *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 365-369.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., VERLAQUE M., KNOEPFFLER-PEGUY M., 1992. The expansion of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Cryptogam. Algal.* 13 : 144-145.
- BOUDOURESQUE C.F., MEINESZ A., RIBERA M., BALLESTEROS E., 1995. Spread of the green alga *Caulerpa taxifolia* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Mediterranean: possible consequences of a major ecological event. *Sci. Mar.* 59 : 21-29.
- FRANCOUR P., 1990. Dynamique de l'écosystème à *Posidonia oceanica* dans le Parc national de Port-Cros. Analyse des compartiments mat, litière, faune vagile, échinodermes et poissons. *Thèse Univ. Pierre et Marie Curie, Paris VI, France* : 373 pp.
- FRANCOUR P., HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., DUCLERC J., 1994. Evolution des peuplements de poissons, entre 1992 et 1993, dans les zones colonisées par *Caulerpa taxifolia* à Menton. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 379-384.
- FRANCOUR P., HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., DUCLERC J., 1995. Impact of *Caulerpa taxifolia* colonization on the littoral ichthyofauna of North-Western Mediterranean sea: preliminary results. *Hydrobiologia* 300/301 : 345-353.
- GELIN A., ARIGONI S., FRANCOUR P., HARMELIN J.G., HARMELIN-VIVIEN M., 1998. Réponse des populations de certains poissons Serranidae et Labridae à la colonisation des fonds par *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie Publ., France : 197-208.
- HARMELIN J.G., 1996. Des habitats artificiels pour réhabiliter les fonds colonisés par *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée ? *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 163-168.
- HARMELIN-VIVIEN M., FRANCOUR P., HARMELIN J.G., 1999. Impact of *Caulerpa taxifolia* on Mediterranean fish assemblages : a six year study. *UNEP : Proceedings of the Workshop on Invasive Caulerpa Species in the Mediterranean*, Heraklion, Crete, Greece, 18-20 March 1998. MTS N°125, UNEP, Athens, Grèce : 127-138.
- HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABE G., BLANC F., CHEVALIER R., DUCLERC J., LASSERRE G., 1985. Evaluation visuelle des peuplements et populations de poissons : méthodes et problèmes. *Rev. Ecol. (Terre Vie)* 40 : 467-539.
- HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., 1996. A 3-year study of the littoral fish fauna of sites colonized by *Caulerpa taxifolia* in the N.W. Mediterranean (Menton, France). *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 391-397.
- MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol. Acta* 14 : 415-426.

RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998. Fish and epiphytic fauna on *Caulerpa taxifolia* and *Cymodocea nodosa* at Imperia (Ligurian Sea). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie Publ., France : 185-195.

RELINI M., TORCHIA G., RELINI G., 1996. A comparison between fish and macrobenthos in an area colonized by the alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh and a control area of *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson. (Preliminary data). *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 399-404.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanol. Acta*. 17 : 659-672.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

WHITEHEAD P.J.P., BAUCHOT M.L., HUREAU J.C., NIELSEN J., TORTONESE E., 1984. Fishes of the north-eastern Atlantic and Mediterranean. UNESCO Publ. Paris : 1473 pp.

FISHES OF BOTTOMS DOMINATED BY *POSIDONIA OCEANICA*, *CYMODOCEA NODOSA* AND *CAULERPA TAXIFOLIA*

Marco RELINI, Giovanni TORCHIA & Giulio RELINI

*Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale. Dip.Te.Ris., Università di Genova, via
Balbi 5, 16126 Genova*

ABSTRACT

The fish assemblages of the marine area of Imperia (Ligurian Sea, N-W Mediterranean) were studied in a cycle of observations during the period from January 1998 to October 1998 in order to compare 4 different environments: *Posidonia oceanica* (P), *Cymodocea nodosa* (CY) and two areas with two different levels of coverage (CSL > 75 %; CMA < 25 %) of the allochthonous alga *Caulerpa taxifolia*. Fish assemblages were studied by visual censuses and catches using 200 m trammel nets. A total of 55 species of fish were either censused or fished. The highest level of species richness was observed at the CSL site (34 species); 26 species were caught and / or censused at P and CMA, and 14 species at CY. Comparing the fish assemblages surveyed, a certain similarity emerges between P and CSL, and a slightly less marked similarity between CY and CMA. The structural complexity of the sea bed at CSL, as the result of the development of *C. taxifolia*, could explain the similarities observed with the fish assemblage present in the *Posidonia* meadow.

RÉSUMÉ

Les peuplements de poissons marins de la région d'Impéria (Mer Ligure, N.O. Méditerranée) ont été étudiés au cours d'un cycle d'observation entre janvier et octobre 1998, dans le but de comparer les peuplements de quatre types d'habitats différents : *Posidonia oceanica* (P), *Cymodocea nodosa* (CY), et deux zones présentant différents niveaux de couverture (CSL > 75 % ; CMA < 25 %) par l'algue introduite *Caulerpa taxifolia*. Les peuplements de poissons ont été étudiés par des relevés visuels et par prélèvements aux filets maillants de 200 m de long. Au total, 55 espèces de poissons ont été recensées visuellement ou par pêche. La richesse spécifique la plus élevée a été observée sur le site CSL (34 espèces) ; 26 espèces ont été vues ou récoltées en P et CMA, et 14 espèces sur le site CY. Lorsque les peuplements de poissons étudiés sont comparés, une similarité certaine s'observe entre les sites P et CSL, et une similarité plus faible entre les sites CY et CMA. La complexité structurale du fond au site CSL, résultant du développement de *C. taxifolia*, pourrait expliquer les similarités observées avec le peuplement de poissons présent dans l'herbier à *Posidonia oceanica*.

INTRODUCTION

In Italian seas *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agadh was recorded for the first time in 1992 (RELINI & TORCHIA, 1992) in the shallow waters between the two harbours of Imperia on the western Ligurian Riviera. The detailed mapping of the coastal strip along this stretch of coast has shown that in the present state of affairs (1998) the surface affected by its presence is vast, although in general characterised by limited densities,

and that other biocoenoses such as the *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow and the finely calibrated sands with *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson (TORCHIA *et al.*, 2001) persist. We thought it would be interesting to compare the fish population in these environments with the areas colonised by *C. taxifolia*, since some authors have suggested that there has been a progressive decline in bio-diversity in the areas colonized by the alga (HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1996), and because of interactions between *C. taxifolia* spreading and fishery (RELINI *et al.*, 1998c).

MATERIAL AND METHODS

Four sites were chosen at Imperia (Western Liguria). They were characterised by flat soft bottoms; two were colonised by *Caulerpa taxifolia* (one completely, the other partially), one by *Cymodocea nodosa* and one by *Posidonia oceanica*:

- S. Lazzaro dock (*Caulerpa* S. Lazzaro - CSL). This area is a still incomplete pleasure boat harbour immediately to the east of Porto Maurizio. This shallow area (4-8 m depth) is covered by an almost continuous meadow of *C. taxifolia*. There is still a good exchange between this only partly closed dock and the open sea.

- *Caulerpa* area < 25 % (*Caulerpa* Mare Aperto – CMA). This is an area of open sea between Oneglia and P. Maurizio, characterised by sandy bottoms colonised partly by *C. taxifolia* with cover below 25 %. In addition to *C. taxifolia* this area also contains the phanerogam *C. nodosa* with cover lower than 25 %. Depths range from 9 to 12 m.

- *Cymodocea* area (CY). This is a sandy area in the open sea colonised by *Cymodocea nodosa*, to the west of Porto Maurizio. The cover of *Cymodocea* is heterogeneous: although present in the whole area there are alternating zones with varying densities of phanerogam. Depths range from 6 to 10 m.

- *Posidonia* area (P). The site is to the west of Porto Maurizio, and is colonised almost entirely by *Posidonia oceanica*. Depths vary between 9 and 12 m.

A total of four fishing campaigns were carried out between January and August 1998 (23.01.98, 08.05.98, 19.06.98, 27.08.98). In each campaign a total of 800 m of trammel nets were let down, 200 m for each site. The nets were cast at sunset and brought up at sunrise by a professional fisherman, supervised on board at every stage by the researchers. The trammel net (12 meshes and 1.5 m high) had a 1.5 m sail.

At the same 4 sites, three underwater transect censuses 50 m long and 4 m wide (200 m²) were carried out during the fishing campaign. Each transect census took place during the morning and lasted approximately 10 minutes. Fish counts were done using abundance clusters (1, 2, 3-5, 6-10, 11-30, 31-50), and distinguishing between young, pre-adults, and adults in every fish species counted (HARMELIN-VIVIEN *et al.*, 1985).

RESULTS

A total of 55 species of fish were either censused or fished: 39 were caught using trammel nets and 32 were observed during the visual censuses. The highest levels of species richness were observed at the CSL site (*Caulerpa taxifolia* meadow) (34 species); 26 fish species were caught and/or censused at P (*Posidonia oceanica* meadow) and CMA (*Caulerpa taxifolia* < 25 %), and 14 species at CY (*Cymodocea nodosa*) (tab. I).

Sparidae and Labridae proved to be the two dominant families at CSL (9 Labridae and 10 Sparidae) and at P (9 Labridae and 9 Sparidae). At both sites the species *Scorpaena porcus* (L.), *Diplodus annularis* (L.) and *Symphodus tinca* (L.) dominated among the species caught. *S. tinca* and *Coris julis* (L.) were the two most numerous species in the censuses carried out at CSL, while *Chromis chromis* (L.) and *Spicara maena* (L.) were dominant among the species censused at P.

A greater abundance of flat fish (Bothidae and Soleidae) and species typical of sandy environments (*Trigla lucerna* (L.), *Mullus barbatus* (L.), *Uranoscopus scaber* (L.)) characterise the CMA and CY sites. At CMA, 3 species belonging to the Labridae family were censused and 1 was fished; at CY no specimens belonging to the Labridae family were either fished or observed.

The comparison of the composition of fish assemblages surveyed by means of the two methods in the four different sites was carried out using the Sorensen index based on the presence-absence of species. It indicated a certain similarity between the *Posidonia* meadow (P) and the *Caulerpa* meadow (CSL), and a slightly less marked similarity between CY and CMA (fig. 1).

Trammel net

The highest yields of fish were obtained at the CMA site, slightly lower values were obtained at CSL and P, while the lowest yields were those obtained at CY (fig. 2).

The highest specific richness values were obtained with hauls carried out at the two sites covered with *Caulerpa taxifolia* (CMA and CSL) (fig. 3).

The comparison made between the abundance data of the different catches using the Bray-Curtis index showed marked similarity between hauls done at CSL and P, on one hand, and those made at CY and CMA on the other (fig. 4).

Visual census

The highest densities were obtained at the P site (on average 52 individuals/200 m²), followed by CSL (36 individuals/200 m²), CMA (10 individuals/200 m²) and CY (8 individuals/200 m²) (fig. 5). The highest specific richness and Shannon index values were obtained at CSL and P (fig. 6 and 7).

The comparison between transects using the Bray-Curtis index, represented in the dendrogram, identified the precise grouping of all transects carried out at P on the one hand, and of all the transects carried out at CSL on the other hand, indicating a marked

distinctness of the fish assemblages of the *Posidonia* and *Caulerpa* meadows (fig. 8). These two groups were nevertheless relatively similar to each other. The transects carried out at CY and CMA were often associated with each other, but there were many exceptions which diverge from the main grouping.

Table I. Species observed during visual censuses (v. census) and / or caught (net) using trammel nets at 4 different environments. Here are shown for each species density (individuals/200 m² ± standard error) and frequency of occurrence (%) as observed during the censuses, and the biomasses (g/200 m²) caught using trammel nets.

FAMILY and <i>Species</i>	CSL			CMA			P			CY		
	v. census		net	v. census		net	v. census		net	v. census		net
	ind/ 200 m ²	%	g / 200 m ²	ind/ 200 m ²	%	g / 200 m ²	ind/ 200 m ²	%	g / 200 m ²	ind/ 200 m ²	%	g / 200 m ²
MURAENIDAE												
<i>Muraena helena</i>									314			
GADIDAE												
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>			35									
SCORPENIDAE												
<i>Scorpaena porcus</i>			746			380.3	0.2±0.1	17	451			145
TRIGLIDAE												
<i>Trigla lucerna</i>						352						
SERRANIDAE												
<i>Serranus cabrilla</i>	0.1±0.1	8	8									
<i>Serranus hepatus</i>				0.2±0.1	17							
<i>Serranus scriba</i>	0.8±0.3	50	20				0.3±0.1	25	124			
APOGONIDAE												
<i>Apogon imberbis</i>			10									
CARANGIDAE												
<i>Trachurus mediterraneus</i>			35									
<i>Trachurus trachurus</i>						55						
SPARIDAE												
<i>Boops boops</i>	0.3±0.3	8	55				6.8±2.1	83	30			24
<i>Dentex dentex</i>			48			85	0.1±0.1	8				
<i>Diplodus annularis</i>	0.4±0.2	33	300			886	2.4±0.7	67	440.5	0.8±0.7	17	63
<i>Diplodus puntazzo</i>							0.1±0.1	8				
<i>Diplodus sargus</i>	1±0.6	25	12						19			
<i>Diplodus vulgaris</i>	0.6±0.3	33	46				0.2±0.1	17	54.5			
<i>Lithognatus mormyrus</i>			18									
<i>Oblada melanura</i>			25				0.1±0.1	8				
<i>Pagellus acarne</i>			3	1.7±1.7	8	3						7
<i>Pagellus erythrinus</i>			46			251						124
<i>Sarpa salpa</i>			31			13			149.5			
<i>Spondyliosoma cantharus</i>									44.5			20
CENTRACANTHIDAE												
<i>Spicara maena</i>	3±1.4	33	333	6±5.2	17	43	15±6.2	50		2.3±1.6	17	
<i>Spicara smaris</i>						16						
SCIAENIDAE												
<i>Sciaena umbra</i>									60			
MULLIDAE												
<i>Mullus barbatus</i>			24	0.9±0.6	25	136				1.8±1.2	25	70
<i>Mullus surmuletus</i>	0.1±0.1	8	248	0.2±0.2	8	131	0.1±0.1	8	45			78

to be continued table I

FAMILY AND SPECIES	CSL			CMA			P			CY		
	v.census		net	v.census		net	v.census		net	v.census		net
	ind/ 200 ²	%	g/ 200m	ind/ 200 ²	%	g/ 200m	ind/ 200 ²	%	g/ 200m	ind/ 200 ²	%	g/ 200m
MUGILIDAE												
<i>Liza aurata</i>			59			66.3						
SPHYRAENIDAE												
<i>Sphyraena sphyraena</i>						162.3						
POMACENTRIDAE												
<i>Chromis chromis</i>	1.1±0.7	25					21±6.1	100				
LABRIDAE												
<i>Coris julis</i>	13±1.8	100		0.7±0.7	8		2.7±1.1	67				
<i>Labrus merula</i>											24	
<i>Labrus viridis</i>	0.2±0.1	17					0.3±0.1	33				
<i>Symphodus cinereus</i>	0.8±0.3	33		0.3±0.2	17	5						
<i>Symphodus dodderleni</i>	0.1±0.1	8										
<i>Symphodus mediterraneus</i>			35				0.1±0.1	8	7			
<i>Symphodus melanocercus</i>							1.3±0.9	17				
<i>Symphodus ocellatus</i>	0.4±0.3	25					0.1±0.1	8				
<i>Symphodus roissali</i>	0.2±0.1	17										
<i>Symphodus rostratus</i>	0.1±0.1	8					0.2±0.2	8				
<i>Symphodus tinca</i>	14±2.2	100	534.5	0.2±0.2	8		0.5±0.2	33	331.5			
<i>Thalassoma pavo</i>							0.1±0.1	8				
CALLYONIMIDAE												
<i>Callionimus</i> sp.				0.1±0.1	8							
SYNODONTIDAE												
<i>Synodus saurus</i>									40.5			3.3
GOBIIDAE												
<i>Gobius</i> sp.	0.1±0.1	8										
URANOSCOPIDAE												
<i>Uranoscopus scaber</i>						248						31.5
BLENNIIDAE												
<i>Parablennius gattorugine</i>	0.1±0.1	8										
<i>Parablennius</i> sp.	0.1±0.1	8										
OPHICHTHYIDAE												
<i>Ophiurus serpens</i>				0.1±0.1	8							
BOTHIDAE												
<i>Bothus podas</i>						410						117.5
<i>Psetta maxima</i>			11.3									
<i>Scophthalmus rhombus</i>						115.5						
SOLEIDAE												
<i>Solea lascaris</i>						556						75.5
<i>Solea kleini</i>						36.5						
<i>Solea vulgaris</i>						21.5						
<i>Solea</i> sp.												9

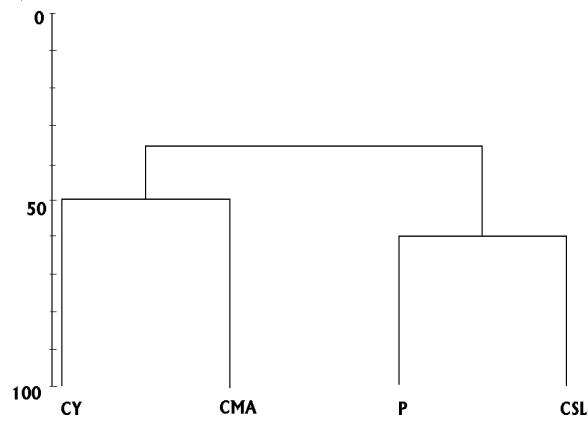


Figure 1. Similarity dendrogram (Sorensen) of the fish population fished and censused in the 4 different environments: CY – *Cymodocea nodosa*; CMA - *Caulerpa taxifolia* < 25 %; CSL - *Caulerpa taxifolia* > 75 %; P – *Posidonia oceanica*.

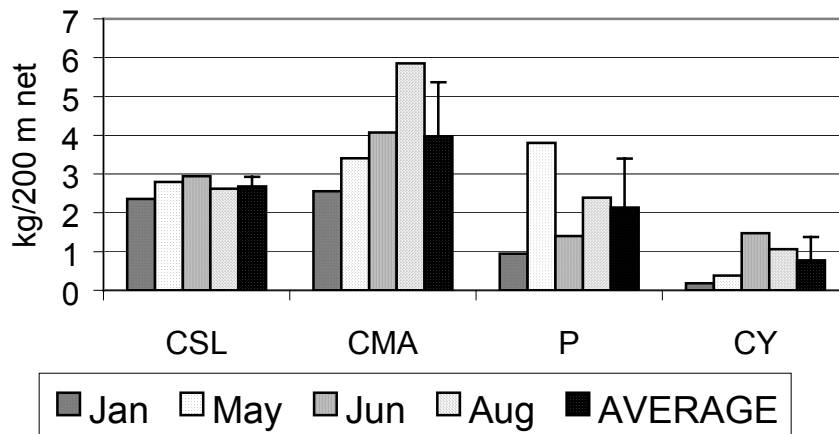


Figure 2. Trammel net: catches using trammel nets (kg/200 m²) in the 4 different environments.

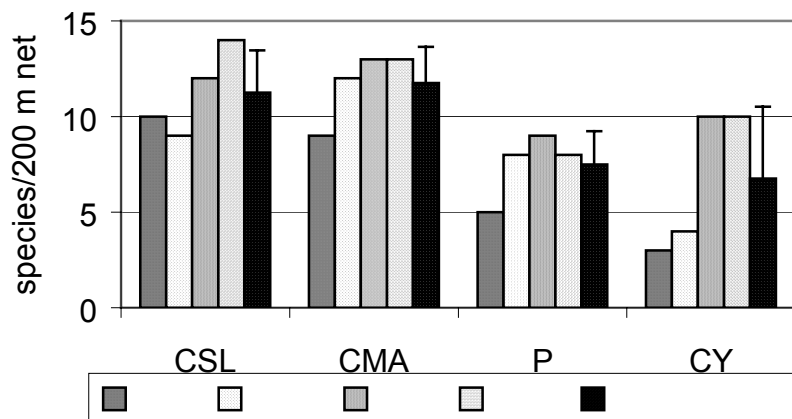


Figure 3. Trammel net: species richness registered during the hauls in 4 different environments.

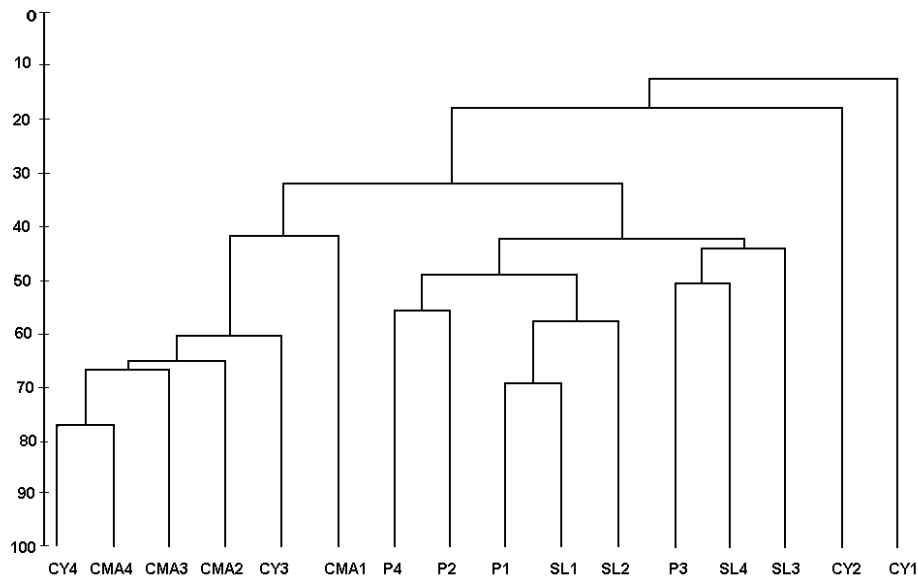


Figure 4. Trammel net: similarity dendrogram (Bray-Curtis) of the hauls carried out in the 4 different environments: CY1.4 – *Cymodocea nodosa*; CMA1.4 – *Caulerpa taxifolia* < 25 %; SL1.4 – *Caulerpa taxifolia* > 75 %; P1.4 – *Posidonia oceanica*.

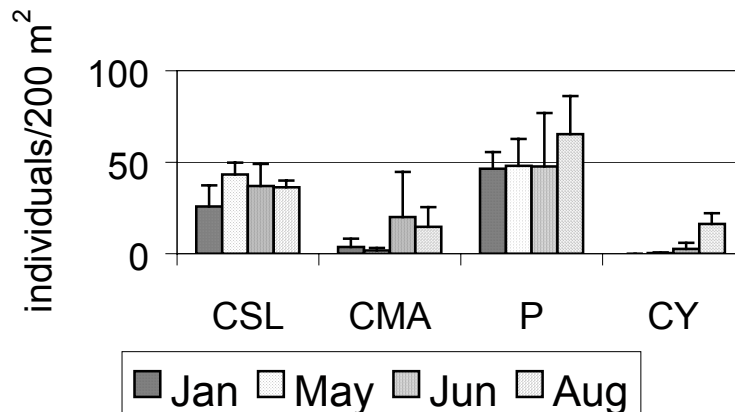


Figure 5. Visual census: fish density as observed during the transects (number of individuals/200 m²) carried out in the 4 different environments.

CONCLUSIONS

In view of the limited scope of the sample, this study carried out in four different environments, cannot claim to describe in detail the fish assemblages occurring on *Posidonia oceanica*, *Caulerpa taxifolia* and *Cymodocea nodosa*. More detailed descriptions of the fish fauna of the *Posidonia* meadow have been offered by various authors: HARMELIN-VIVIEN (1983, 1984) recorded 58 different fish species in the Marseilles region (France), 53 in the meadows of Port-Cros (France), 41 fish species in the meadow of the Gulf of Galeria (Corsica); BELL & HARMELIN-VIVIEN (1982),

identified 49 species in *Posidonia* beds near Marseilles. More in-depth descriptions of the fish population occurring in a *Caulerpa* meadow were made at Imperia (RELINI *et al.*, 1998a, b).

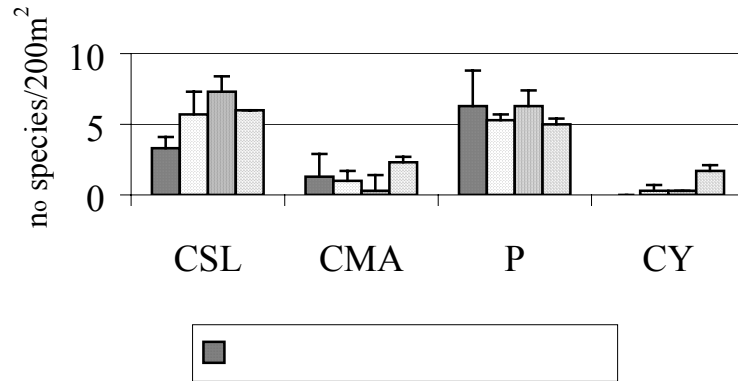


Figure 6. Visual census: species richness registered during the transects carried out in the 4 different environments.

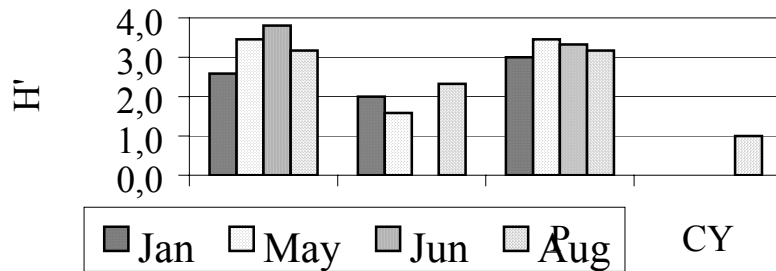


Figure 7. Visual census: Shannon index of the fish population as observed during censuses in the 4 different environments.

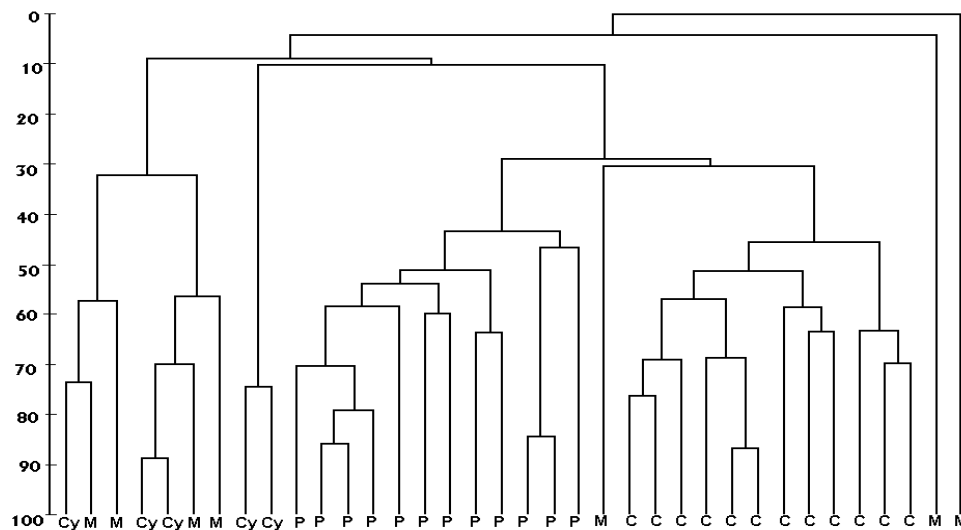


Figure 8. Visual census: similarity dendrogram (Bray-Curtis) of the transects carried out in the 4 different environments: CY – *Cymodocea nodosa*; M – (CMA) *Caulerpa taxifolia* < 25 %; C – (CSL) *Caulerpa taxifolia* > 75 %; P – *Posidonia oceanica*.

The data relative to fishing yields need to be interpreted in the light of a possible greater impact of professional fishing on the CY and P sites compared to CSL and CMA, since fishermen prefer to choose areas where their nets do not get dirty.

This study made a largely qualitative comparison of the fish assemblages present on flat soft bottoms colonised by *Posidonia*, *Caulerpa* and *Cymodocea*:

- where the level of *Caulerpa taxifolia* on the sea bed is high (CSL site) relatively high specific richness values, Shannon diversity index, fish density and fishing yields were observed;

- where the *Caulerpa taxifolia* cover is thin (< 25 %, CMA site), the fish population still maintains the characteristics to be found on *Cymodocea nodosa* meadows and on sandy bottoms, and is characterised by the presence of flat fish (Soleidae and Bothidae). Besides the species typical of sandy environments, there also occur - rare and in small quantities - some species of the Labridae family, and the *Scorpaena porcus* species, which is dominant on the *C. taxifolia* meadow (CSL). This intermediary or transitional situation makes it possible for there to be a fairly high level of specific richness on flat bottoms with a thin covering of *C. taxifolia*;

- marked similarities have emerged between the fish fauna of the *C. taxifolia* and the *P. oceanica* meadow. These similarities were particularly evident when looking at the data obtained with the fishing method, and less evident (though still present) on the basis of the information obtained through visual censuses. The abundance of Labridae, Sparidae and species that need sheltered environments (*Scorpaena porcus*, *Serrannus scriba*) are the main characteristics common to the two environments.

On the basis of these observations the importance of the structural complexity of the sea bed becomes clear. If colonised by a dense *Caulerpa taxifolia* meadow, the sea bed takes on an appearance in part similar to a *Posidonia oceanica* meadow. This phanerogam constitutes one of the richest bioceonoses in the Mediterranean, thanks to the micro-environments created by leaves, mattes and epibionts. A flat bottom with a high density of *Caulerpa taxifolia* presents greater rugosity than originally to be found. The “architecture” of the sea bed takes on a crucial role in influencing the fish population (GORHAM & ALEVIZON, 1989; HARMELIN-VIVEN *et al.*, 1994; ODY & HARMELIN, 1994) and this might explain the similarities observed between the population present on the *Posidonia oceanica* meadow and that on the *Caulerpa taxifolia* meadow.

The bottoms covered with *Caulerpa taxifolia* were therefore not poor in terms of life (BEDINI & CANALI, 1998; RELINI *et al.*, 1998b). However, since the invasion of the allochthonous alga homogenizes different environments and bioceonoses (rocky, sandy and muddy bottoms), there can even be a considerable reduction in overall diversity (RELINI *et al.*, 1998a).

Acknowledgments: The research was supported by the Regione Liguria.

REFERENCES

- BELL J.D., HARMELIN-VIVIEN M., 1982. Fish fauna of French Mediterranean *Posidonia oceanica* seagrass meadows. 1. community structure. *Tethys* 10 (4) : 337-347.
- BEDINI R., CANALI M.G., 1998. Studio preliminare sulle zoocenosi associate a *Caulerpa taxifolia* nella baia di Galenzana (Isola d'Elba). *Biol. Mar. Medit.* 5 (1) : 179-184.
- GORHAM J.C., ALEVIZON W.S., 1989. Habitat complexity and the abundance of juvenile fishes residing on small scale artificial reef. *Bull. mar. sci.* 44 (2) : 662-665.
- HARMELIN-VIVIEN M., 1983. Ichtyofaune des herbiers de posidonies des côtes provençales françaises. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Mer. Médit.* 28 (3) : 161-163.
- HARMELIN-VIVIEN M., 1984. Ichtyofaune des herbiers de posidonies du Parc Naturel Regional de Corse. *International Workshop on Posidonia oceanica Beds*. Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A., Olivier J. eds., GIS Posidonie publ. 1, France : 291-301.
- HARMELIN-VIVIEN M.L., HARMELIN J.G., CHAUVET C., DUVAL C., GALZIN R., LEJEUNE P., BARNABE G., BLANC F., CHEVALIER R., DUCLERC J., LASSERRE G., 1985. Evaluation des peuplements et populations de poissons. Méthodes et problèmes. *Rev. Ecol. (Terre Vie)* 40 : 467-539.
- HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., 1994. Influence de quelques facteurs du milieu sur le peuplement de poissons des prairies à *Caulerpa taxifolia* à Monaco. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie publ., France : 385-391.
- HARMELIN-VIVIEN M., HARMELIN J.G., FRANCOUR P., 1996. A 3-year study of the littoral fish fauna of sites colonized by *Caulerpa taxifolia* in the N.W. Mediterranean (Menton, France). *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gómez A., Gravez V. eds., Universitat Barcelona Publ., Spain : 391-397.
- ODY D., HARMELIN J.G., 1994. Influence de l'architecture et de la localisation de récifs artificiels sur leurs peuplements de poissons en Méditerranée. *Cybium* 18 (1) : 57-70.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998a. Fish and epiphytic fauna on *Caulerpa taxifolia* and *Cymodocea nodosa* at Imperia (Ligurian sea). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Pallury F. eds., GIS Posidonie publ., France : 185-195.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998b. Fish biodiversity in a *Caulerpa taxifolia* meadow in the Ligurian Sea. *Ital. J. Zool.* 65 suppl. : 465-470.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998c. The role of fishing gears in spread of allocthonous species : the case of *Caulerpa taxifolia* in the Ligurian Sea. *Marine Benthos Dynamics : Environmental and Fisheries Impacts. ICES Symposium, IMBC, Crete 1998*. (in press).
- RELINI M., TORCHIA G., 1992. Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in acque italiane. *Doriana, suppl. Annuali Museo Civico Storia Naturale "G. Doria"*, Genova 279 : 1-4.
- TORCHIA G., PALANDRI G., CIMA C., RELINI M., RELINI G., 2001. Map of *Caulerpa taxifolia* around Imperia (Italy). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 66-70.

«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001

CONTROL TECHNIQUES AND STRATEGY

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

PARTIAL ERADICATION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* IN STARI GRAD BAY (CROATIA)

Ante ŽULJEVIĆ & Boris ANTOLIĆ

Institute of Oceanography and Fisheries, Mestroviceva 63, 21000 Split, Croatia

ABSTRACT

At the end of 1997, before eradication, there were one large and five small stations of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Stari Grad Bay (43°10'54''N - 16°35'00''E) (Hvar Island, Adriatic Sea, Croatia), covering 36 100 m² of the 122 500 m² of affected surfaces, with 1 955 m of the affected shoreline in total. In October 1997, eradication of border algae colonies was carried out at the central station, and complete eradication of algae were done in all smaller remaining stations. The purpose was to prevent further expansion throughout the bay. Eradication was done manually with the aid of a suction pump and by covering the colonies with a black PVC foil. The eradication process lasted 15 days, and involved 8 divers (202 hours of total diving time). Manual extraction was utilised with the aid of a suction pump and 250 m² of smaller individual colonies was extracted. In total, 512 m² of the algae colonies were covered with black PVC foil (approx. 990 m² of black PVC foil was used). In January 1998, the covered alga had completely disappeared. During the summer of 1998, a sporadic reappearance of algae occurred in the eradicated area.

RÉSUMÉ

Fin 1997, avant l'opération d'éradication, une grande et cinq petites stations de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, étaient présentes dans le Baie de Stari Grad (43°10'54''N - 16°35'00''E) (île de Hvar, Adriatique, Croatie), couvrant 36 100 m² de la surface atteinte estimée à 122 500 m², avec 1 955 m de linéaire de côte atteint. En octobre 1997, l'éradication des colonies de l'algue a été entreprise pour les colonies se trouvant en bordure de la grande station et en totalité pour les petites stations. Le but était de prévenir une expansion de l'algue dans toute la baie. L'éradication a été réalisée manuellement, à l'aide d'une suceuse et en couvrant les colonies avec une bâche PVC noire. L'éradication a duré 15 jours avec 8 plongeurs (202 heures de temps de plongée). L'arrachage manuel a été utilisé avec l'aide de la suceuse et 250 m² des plus petites colonies furent ainsi retirées. Au total, 512 m² des colonies ont été couvertes avec la bâche PVC noire (approximativement 990 m² de bâche utilisés). En janvier 1998, *Caulerpa taxifolia* avait totalement disparu de la zone éradiquée. Durant l'été 1998, l'algue est réapparue sporadiquement dans cette zone.

INTRODUCTION

The first observation of the alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, in the Adriatic Sea was in Stari Grad Bay (Hvar Island, Croatia) during the summer of 1994. It was estimated that the algae was brought into the area of Stari Grad Bay in 1991 (ŠPAN *et al.*, 1998). At the end of 1997, before eradication, there were one large and five small stations in the bay area covering 36100 m² of the affected surfaces of 122500 m² and

1955 m of the shoreline in total (fig. 1). The algae were found at depths between 0.5 and 20 m, on the hard bottom with photophilic and sciaphilic biocenoses and on the sandy and muddy bottom with seagrass beds (*Posidonia oceanica* (L.) Delile, *Cymodocea nodosa* (Ucr.) Ascher. and *Zostera noltii* Horn.) (ŽULJEVIĆ *et al.*, 1998a, 1998b).

In October 1997, eradication of border algae colonies was carried out at the central station and complete eradication of algae were done in all smaller remaining stations. The purpose was to prevent further expansion throughout the bay. Due to hydrodynamism, the areas of new smaller colonies could rapidly increase in area in subsequent seasons. The methodology of eradication and results are presented.

MATERIAL AND METHODS

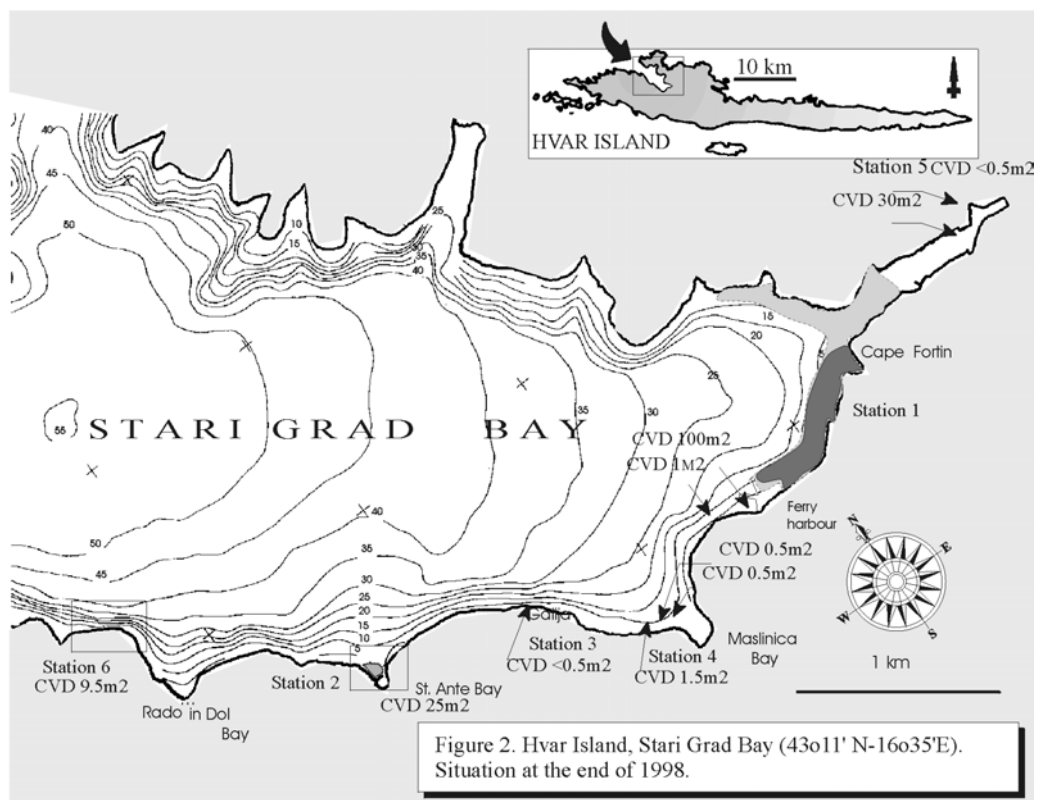
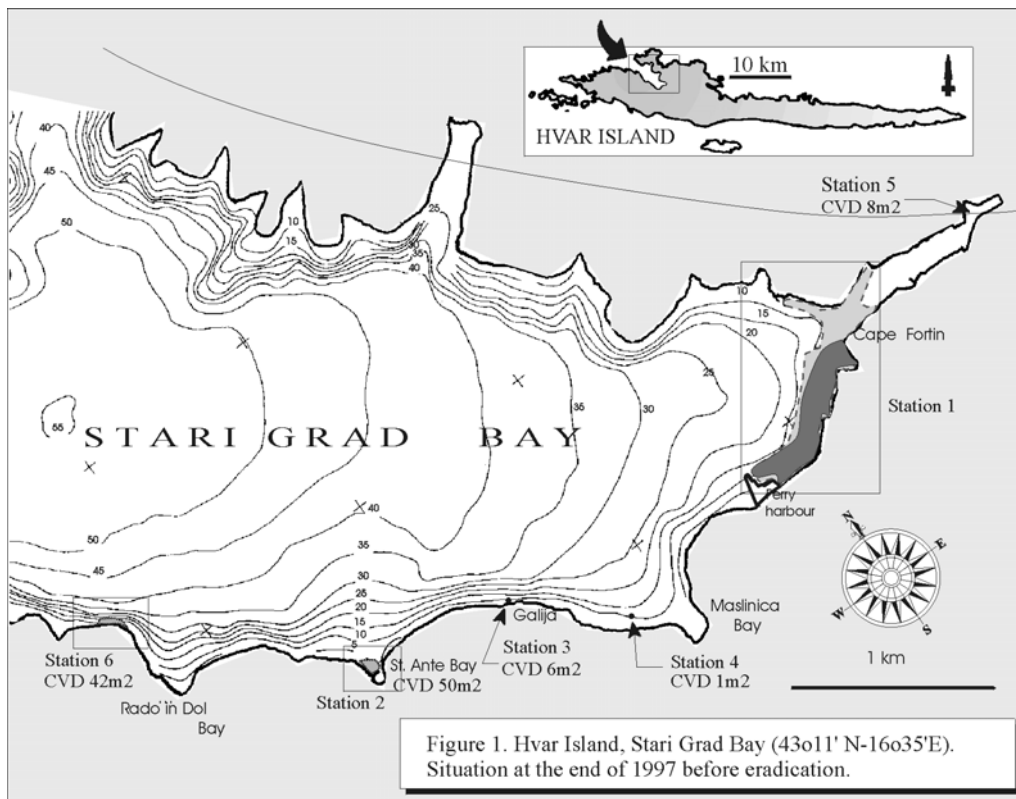
Eradication was done manually with the aid of a suction pump and by covering the colonies with black PVC foil. The eradication process lasted 15 days (October 17 – 31) and involved 8 divers (202 hours of total diving time). Manual extraction was utilised with the aid of a suction pump and 250 m² of smaller individual colonies was extracted. In total, 512 m² of the algae colonies were covered with the black PVC foil (approx. 990 m² of black PVC foil was used). The 4 m wide, 0.15 mm thin, rolled black, PVC foil was secured on the bottom by nails and stones.

RESULTS AND DISCUSSION

The best eradication results were achieved by covering with the plastic foil. Because algae fragments could remain, extraction by suction pump or manual extraction were rough methods with a high possibility of algae regeneration, which is what happened with eradications of small stations. The covered part of the colonies disappeared, contrary to the manually extracted small isolated plants, which regenerated a year after eradication (tab. I) (fig. 2, 3, 4, 5 and 6).

The eradication process was carried out in October. The autumn and winter periods were without intensive sea water hydrodynamism, which is important in order to be able to secure the plastic foil on the bottom during a longer period of time.

The main eradication effort was concentrated on the area from Cape Fortin towards Stari Grad Port to prevent the algae from spreading in that direction (fig. 7). Unfortunately, in that area and the area in front of the hotels Arkada and Helios on the other side of the bay, numerous algae fragments were brought in by strong winds during September 1998 (fig. 8). This area is now most likely beyond the scope of control procedures.



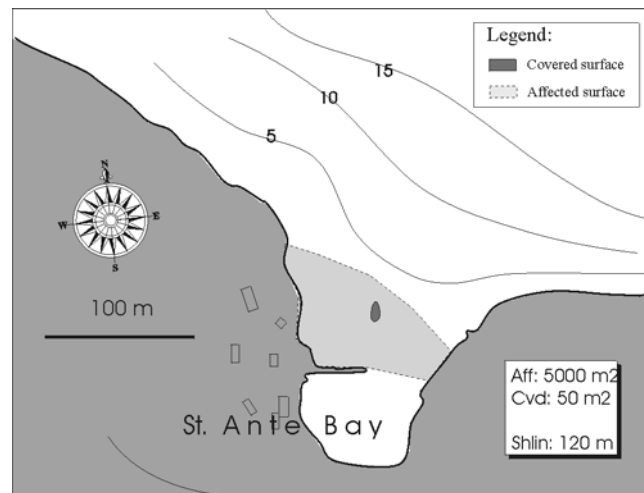


Figure 3. Stari Grad Bay. Station 2. Situation at the end of 1997, before eradication.

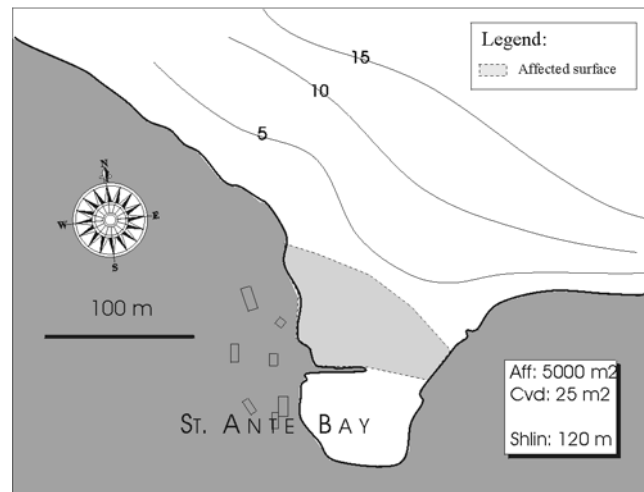


Figure 4. Stari Grad Bay. Station 2. Situation at the end of 1998.

At the end of 1998, new distant colonies were also detected (fig. 2). They were most probably established by transportation of algae fragments in fishing nets.

Manual eradication with the aid of a suction pump

It was a successful method only on muddy bottoms. The basic problems were low visibility caused by the eradication process, and the fact that large amounts of algae fragments remained after eradication.

Manual eradication and collection of fragments.

This is a rapid method for an area with numerous small, isolated plants and fragments on sandy and muddy bottoms. The problem was a high possibility of regeneration of the algae colony due to remaining thalli fragments and rhizoids.

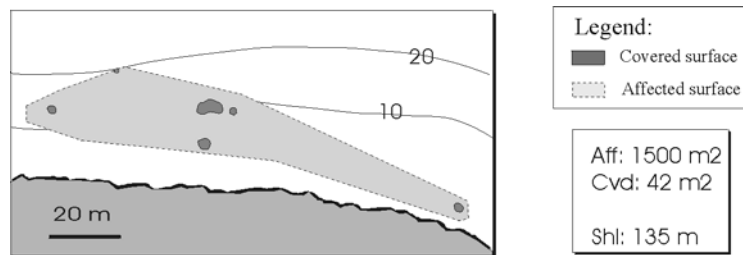


Figure 5. Stari Grad Bay. Station 6. Situation at the end of 1997, before eradication.

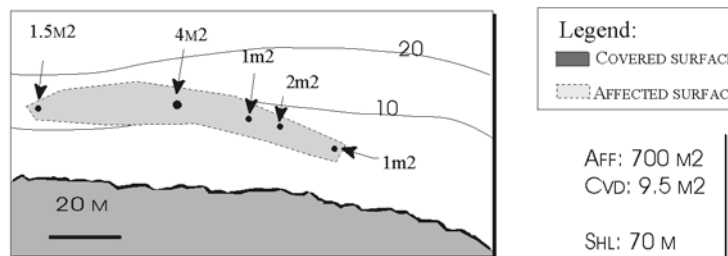


Figure 6. Stari Grad Bay. Station 6. Situation at the end of 1998.

Covering by PVC foil.

This was the fastest, cheapest and most successful eradication method, suitable for all types of substratum. *Caulerpa taxifolia* completely disappear under foil within 3 months. The problems are possible uncovered cover fragments and damage of the foil caused by fishing and anchoring.

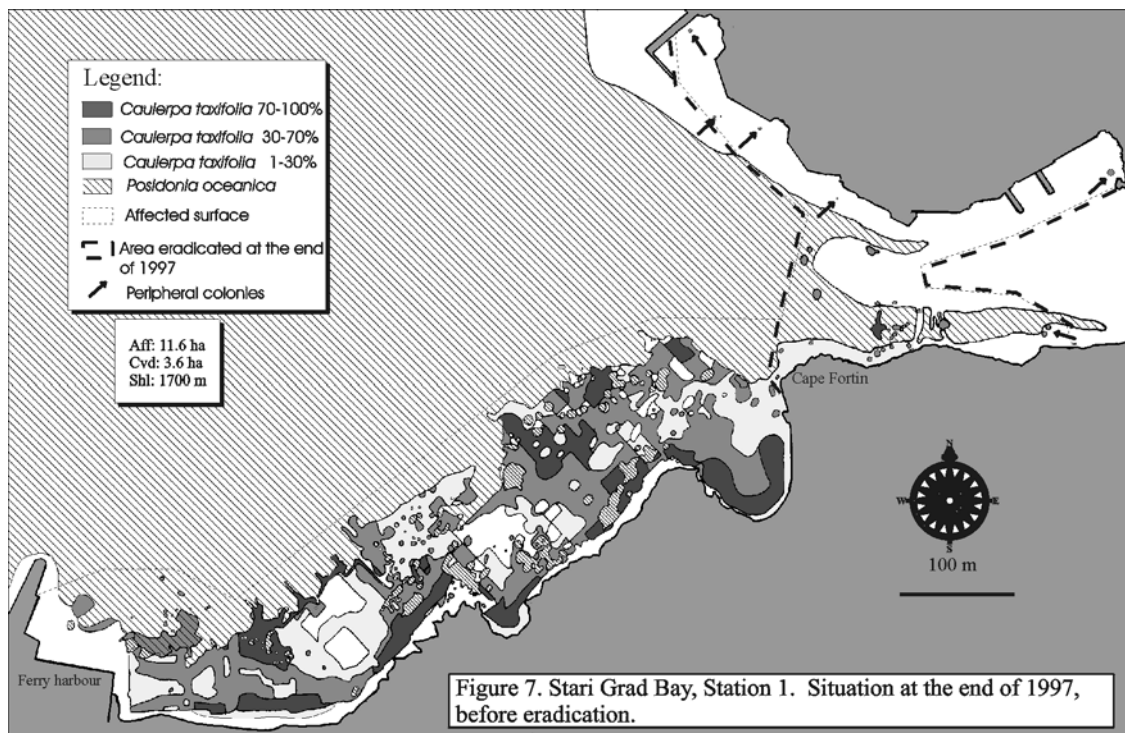
CONCLUSIONS

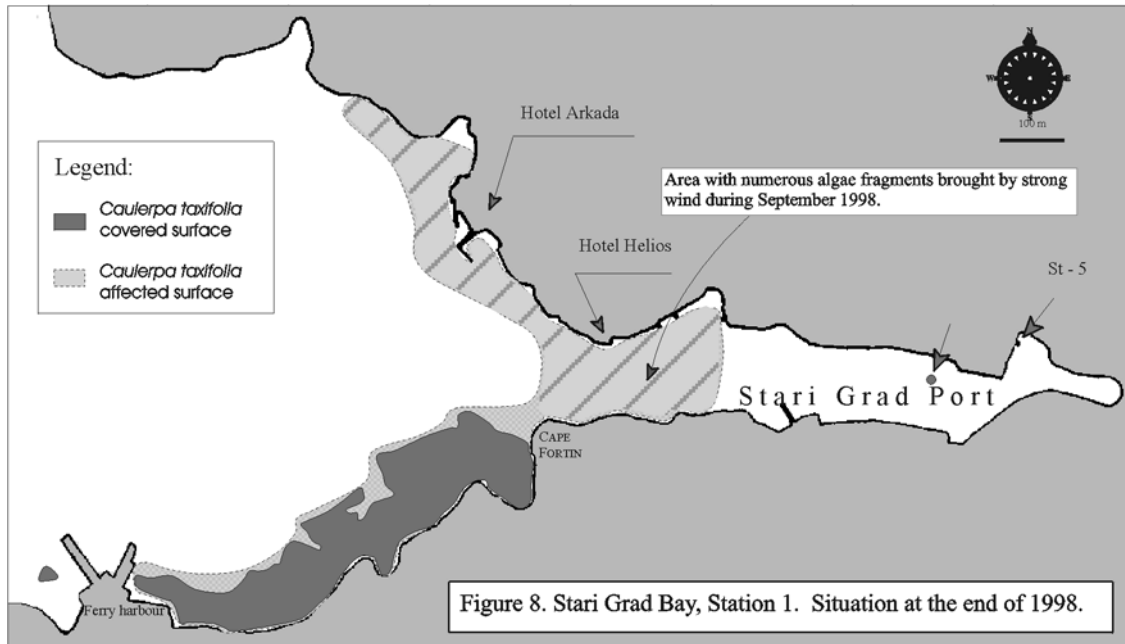
The control of the spread of *Caulerpa taxifolia* in Stari Grad Bay is necessary. On the other hand, the rapid expansion and complete colonisation of the Bay is to be expected. Covering with PVC foil is an excellent method for the eradication of small, isolated colonies. Under the foil *C. taxifolia* completely disappears within 3 months. The area eradicated by foil must be monitored due to algae regeneration from the remaining uncovered fragments. At the end of 1998, a new eradication process was undertaken in all isolated stations and at the border of the central station.

Acknowledgements: We would like to thank the Split-Dalmatian county authority, for supporting the eradication and the NGO "BIOS" which carried out the field work.

Table I. Characteristics of eradicated *Caulerpa taxifolia* colonies in Stari Grad Bay.

Station specification				Situation at the end of 1997, before eradication	Situation at the end of 1998
Station identity	Depth [m]	Substratum	Method of eradication		
St - 1 Cape Fortin area	0.5-12	mud, rock, sand <i>Posidonia oceanica</i>	PVC foil manually suction pump	CVD 573 m ²	probably out of control
St - 2 St. Ante Bay	3 - 5	sandy-muddy <i>Cymodocea nodosa</i>	PVC foil manually	CVD 35 m ² + approx. 50 isolate plants	approx. 50 isolate plants
St - 3 Galija	4	rock, sand <i>Cymodocea nodosa</i>	PVC foil	CVD 6 m ²	CVD < 0.5m ²
St - 4 Maslinica Bay	12	sand <i>Cymodocea nodosa</i>	manually	CVD 1 m ²	CVD 1.5 m ²
St - 5 Babareta Bay	0.5	mud	PVC foil manually	CVD 8 m ²	CVD 1 m ²
St - 6 Radocin Dol Bay	4-20	rock, sand <i>Posidonia oceanica</i>	PVC foil manually	CVD 42 m ²	CVD 9.5 m ²





REFERENCES

ŠPAN A., ANTOLIĆ B., ŽULJEVIĆ A., 1998. The genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) in Adriatic Sea. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Sci. Mer Médit.* 35 : 584-585.

ŽULJEVIĆ A., ANTOLIĆ B., ŠPAN A., 1998a. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Starigrad bay (island Hvar, Croatia). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 51-59.

ŽULJEVIĆ A., ZAVODNIK N., ANTOLIĆ B., JAKLIN A., ŠPAN A., 1998b. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes Croates de la Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. *Suivi de l'invasion de l'algue tropicale Caulerpa taxifolia en Méditerranée: Situation au 31 décembre 1997*. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiavérini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML Université de Nice-Sophia Antipolis publ., France : 211-224.

APPEARANCE AND ERADICATION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* IN THE BARBAT CHANNEL (CROATIA)

Ante ŽULJEVIĆ & Boris ANTOLIĆ

Institute of Oceanography and Fisheries, Meštrovićeva 63, 21000 Split, Croatia

ABSTRACT

The first observation of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, in the area of the Barbat Channel (44°44'16''N - 16°53'32''E) (between Rab Island and Dolin Island, Adriatic Sea, Croatia), was in September of 1996. At that time, about 20 m² of the surface was covered on 350 m² of affected zone. The alga was located on sandy and rocky bottoms between 2.5 and 8 m depth. The colony was manually extracted from October 5 - 14. Approximately 130 hours of diving time in total was needed for the process. Following eradication, there were a number of follow-up investigations of both the eradicated area, as well as the surrounding area (\pm 1.5 km), and no algae were found. The last follow-up investigation of this region was carried out in January 1998 by our team, and no *C. taxifolia* was found at that time.

RÉSUMÉ

La première observation de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, dans la région du canal de Barbat (44°44'16''N - 16°53'32''E) (entre l'île de Rab et l'île de Dolin, Adriatique, Croatie), a eu lieu en septembre 1996. A cette époque, environ 20 m² étaient couvert et une surface de 350 m² était atteinte. L'algue se trouvait sur le sable et sur le substrat rocheux, entre 2.5 et 8 m de profondeur. La colonie a été arrachée manuellement entre le 5 et le 14 octobre. Environ 130 heures de plongée ont été nécessaires. Après l'éradication, une série de suivis furent réalisés sur la zone éradiquée et autour (\pm 1.5 km), l'algue n'a pas été trouvée. Le dernier suivi a été réalisé en janvier 1998, par notre équipe, et *Caulerpa taxifolia* n'a pas été retrouvée.

INTRODUCTION

From the initial observation of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Adriatic Sea in Stari Grad Bay (ŽULJEVIĆ *et al.*, 1998a), up to the present, much has been done to increase public awareness of the problem in Croatia. Many articles have been published in magazines and newspapers; numerous programs have been broadcast as well, on both radio and television. Lectures have been given, particularly in diving clubs and in regions where the alga has appeared.

In 1995, the Institute of Oceanography and Fisheries in Split, published and distributed brochures in English and Croatian containing basic information regarding the alga. The brochure "Wanted *Caulerpa taxifolia*", published by the LIFE project, was sent to approximately 2000 addresses: port authorities, marinas and ports, diving clubs and centres, recreational fishing associations, elementary and high schools and tourist associations (COTTALORDA *et al.*, 1998).

The aim of this program is the early discovery and eradication of new colonies and the prevention of further spreading from existing colonies to new locations by human activities.

In September 1996, the third colony of *C. taxifolia* in Adriatic Sea was observed in the Barbat Channel area (ŠPAN *et al.*, 1998). The characteristic of the colony and the methodology of its eradication are presented.

CHARACTERISTICS OF THE COLONY

The tropical alga *Caulerpa taxifolia* was observed in the Barbat Channel (44°44'16''N - 16°53'32''E) for the first time in September 1996 by local divers.

The algae was found in the photophilic biocenoses on a hard bottom and in a *Cymodocea nodosa* seagrass bed on a sandy bottom at depths of between 2.5 and 8 m. About 20 m² of surface was covered on 350 m² of affected zone (fig. 1). It was inferred that the arrival of the first fragment was probably in 1995 (ŽULJEVIĆ *et al.*, 1998b).

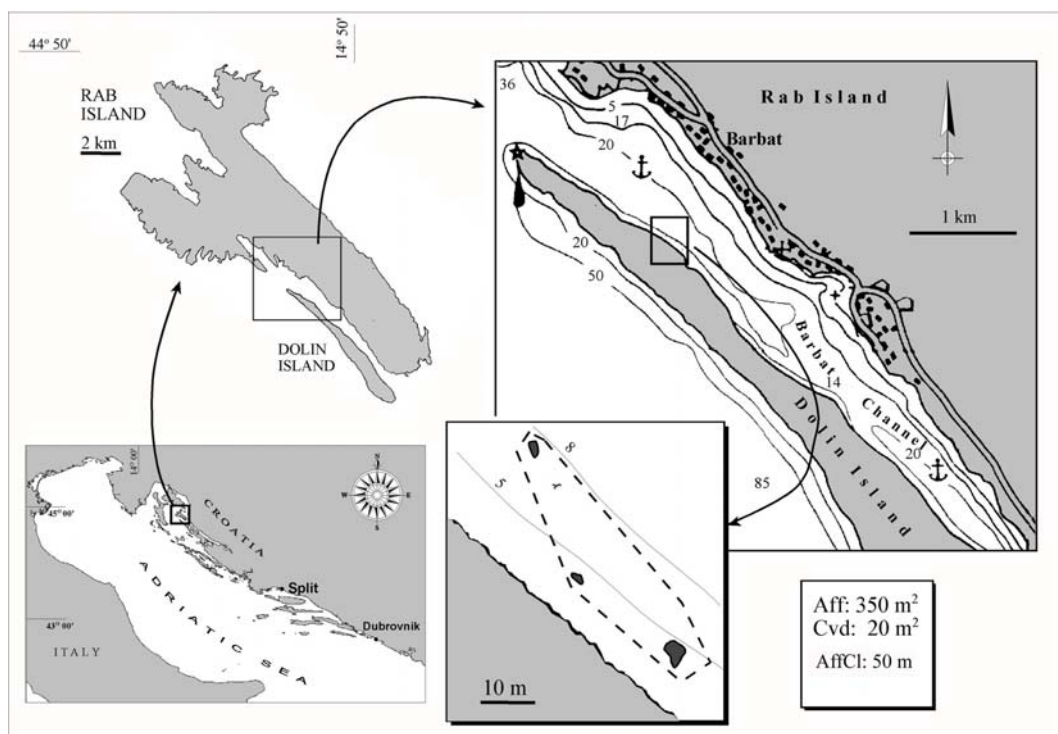


Figure 1. Position of the *Caulerpa taxifolia* colony in the Barbat Channel (44°44'16''N - 16°53'32''E). Situation in October 1996. Aff – affected surface, Cvd – covered surface, AffCl – affected coastline.

ERADICATION

From October 5 – 14, the diving club *Amphora* from the town of Rab carried out eradication of the alga *Caulerpa taxifolia*. On the sandy bottom, each rhizoid pillar with bunches of rhizoids was unrooted manually with the aid of a fork. The algae attached to the stones were pulled out of the sea together with the substrate. Eradication was carried out by 3 divers. Only one did the actual eradication. The other two divers carried the bags with the collected algae and checked the eradication. Approximately 130 hours of diving time in total were needed for this process. The eradication was financially supported by the local government of the town of Rab.

FOLLOW-UP

Following eradication, there were a number of follow-up investigations of both the eradicated area and the surrounding area (± 1.5 km); no *C. taxifolia* was found. The last follow-up investigation of this region was carried out in January 1998, more than one year later, by us and at that time no *C. taxifolia* was found.

CONCLUSIONS

The Barbat Channel case is an instructive example of the successfully eradication of a small area, and the necessity of public awareness of *Caulerpa taxifolia*, with the aim of discovering and eradicating new colonies at an early stage.

REFERENCES

COTTALORDA J.M., GRAVEZ V., ANTOLIĆ B., ARANDA A., BALLESTEROS E., BOUDOURESQUE C.F., CASSAR N., CINELLI F., DARDER RIBOT J.D., ORESTANO C., GRAU JOFRE A., JAKLIN A., MEINESZ A., RODRIGUEZ-PIETRO C., ŠPAN A., THIBAUT T., VAUGELAS J. de, ZAVODNIK N., ŽULJEVIĆ A., 1998. Second international campaign for public awareness of the *Caulerpa taxifolia* problem. An essential tool to collect cartographic data and to slow down the spread of this alga. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 9-16.

ŠPAN A., ANTOLIĆ B., ŽULJEVIĆ A., 1998. The genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) in Adriatic Sea. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Sci. Mer Médit.* 35 : 584-585.

ŽULJEVIĆ A., ANTOLIĆ B., ŠPAN A., 1998a. Spread of the introduced tropical green alga *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in Starigrad bay (island Hvar, Croatia). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 51-59.

ŽULJEVIĆ A., ZAVODNIK N., ANTOLIĆ B., JAKLIN A., ŠPAN A., 1998b. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* devant les côtes Croates de la Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. *Suivi de l'invasion de l'algue tropicale Caulerpa taxifolia en Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997*. Meinesz A., Cottalorda J.M., Chiavérini D., Cassar N., Vaugelas J. de eds., LEML Université de Nice-Sophia Antipolis publ., France : 211-224.

CAN WE PREDICT THE ECO-TOXICOLOGICAL EFFECTS RESULTING FROM THE TREATMENT OF *CAULERPA TAXIFOLIA* BY CUPRIC IONS ?

Claude GAVACH, Roger SANDEAUX & Jacqueline SANDEAUX

Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires, UMR 5635, CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

ABSTRACT

This paper gives a summary of conferences and discussions of the seminar held in Montpellier, March 12, 1998, on the eco-toxicological effects resulting from the treatment of *Caulerpa taxifolia* by cupric ions. Some values of copper concentrations in seawater and sediments were given. The chemical speciation of copper was recalled showing that at the seawater pH of 8.1, the amount of the free Cu^{2+} form which is the toxic form, is lower than 1 %. Various organic ligands can also form stable complexes with copper reducing its bioavailability and toxicity. Thus, although many studies have shown that this metal has an inhibiting effect on the floral as well as faunal growth, the controlled use of copper techniques could already slow down the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea.

RÉSUMÉ

Cet article résume les exposés et discussions qui ont eu lieu lors du séminaire qui s'est tenu à Montpellier, le 12 mars 1998, concernant l'impact éco-toxicologique des techniques de destruction de *Caulerpa taxifolia* par l'ion cuivrique. Des teneurs en cuivre dans l'eau de mer et dans les sédiments ont été données et montrent une grande variation selon les sites. La spéciation chimique du cuivre montre qu'au pH de l'eau de mer (8.1), moins de 1 % de la quantité totale de cuivre se trouve sous la forme libre Cu^{2+} , qui est seule responsable de la toxicité de cet élément. D'autre part, de nombreux ligands d'origine organique sont également présents dans le milieu marin et forment avec le cuivre des complexes stables diminuant ainsi la biodisponibilité et, par conséquent, la toxicité de cet élément. Même si de nombreuses études ont montré les effets inhibiteurs du cuivre vis-à-vis de la flore et de la faune aquatiques, il s'avère que dans des conditions bien contrôlées, les techniques au cuivre pourraient être utilisées pour combattre l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée.

INTRODUCTION

Three techniques (electrolysis, textile covers, diffusion) using the algicidal properties of copper were developed with the aim of destroying *Caulerpa taxifolia*. Their common principle is based on a controlled release of cupric ions in the close vicinity of the alga. After the treatment, a certain amount of copper, depending on the nature of the substrate as well as on the growth level of the alga, remains in the marine medium.

While the inventors of these techniques are developing large scale treatments, a clear understanding of eco-toxicological effects of copper is essential to minimise and manage the impact of copper treatment on the marine environment. From these data,

protocols which will guarantee both the optimum efficiency and the lowest damage to the environment, would be developed. Besides, the information gained, as far as is known at present, could help the decision makers to establish measures to slow down the spread of this alga.

The purpose of the seminar held in Montpellier on March 12th 1998 was to find some answers to these questions. The list of participants is given in table 1.

CHEMICAL EVOLUTION OF COPPER IN THE MARINE ENVIRONMENT

R. SANDEAUX recalled the chemical speciation of copper in the marine environment, seawater and sediment (ZIRINO & YAMAMOTO, 1972). Some ten complexes could be formed by the divalent cation (Cu^{2+}) with chemical compounds present in seawater. In figure 1, the calculated distribution of the chemical species of copper in seawater is plotted as a function of the pH. At the average seawater pH of 8.1, the predominant chemical species, $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$ (90 %) and CuCO_3^0 (8 %), are in neutral form; the fractions of the uncomplexed copper ion Cu^{2+} and the ion pair CuOH^+ are about 1 %; all the other copper species considered in the model are negligible.

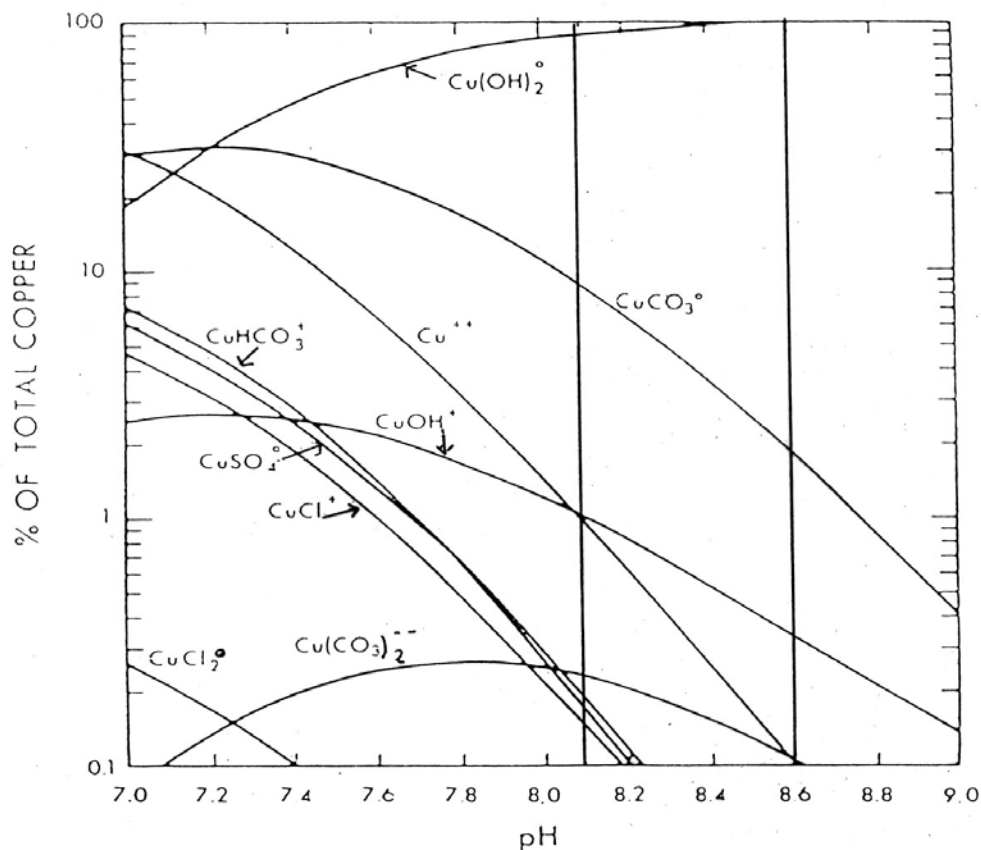


Figure 1. Calculated distribution of the chemical species of copper in seawater at 25 °C and 1 atm as a function of pH.

Table 1. Participants at the seminar, "Impact eco-toxicologique des techniques de destruction de *Caulerpa taxifolia* par le cuivre", March 1998, Montpellier, France.

BACCOU Jean-Claude	Université de Montpellier II – MONTPELLIER Laboratoire Génie Biologique et Sciences des Aliments
BONNAL Laurent	CNRS – MONTPELLIER
BONTOUX Jean	Faculté de Pharmacie – MONTPELLIER Département Science de l'environnement et Santé Publique
CHARRIN Jean-Pierre	NOVELECT – PACA – MARSEILLE
CHARMANTIER Guy	Université de Montpellier II – MONTPELLIER Laboratoire d'Ecophysiologie des Invertébrés
COMBES Jean-François	MEDINTEC – LIEURAN-LES-BEZIERS
DUBOST Alexandre	Université de Montpellier II – MONTPELLIER
EMERY Eric	IFREMER – LA SEYNE SUR MER
FORGUE Jean	Université de Bordeaux I – ARCACHON Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie des Systèmes Aquatiques
FOUQUE A.	A.D.P.M.C.T., VAR ANIM'EAU – SAINT CYR SUR MER
GAVACH Claude	C.N.R.S. – MONTPELLIER Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires
GOSSELIN Jean-Philippe	Université de Montpellier II – MONTPELLIER Laboratoire de Physiologie Végétale Appliquée
GRAVEZ Vincent	GIS POSIDONIE – MARSEILLE
LASSAGNE Anne	Faculté de Pharmacie – SALON DE PROVENCE
PALLUY Frédéric	GIS POSIDONIE – MARSEILLE
PICOT Bernadette	Faculté de Pharmacie – MONTPELLIER Département Science de l'Environnement et Santé Publique
REBOUILLON Pierre	Faculté de Pharmacie – MARSEILLE Laboratoire d'Hydrologie et de Molysmologie Aquatique
ROMEO Michèle	Faculté de Médecine – NICE Laboratoire de Physiologie et Toxicologie Environnementales
SANDEAUX Jacqueline	C.N.R.S. – MONTPELLIER Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires
SANDEAUX Roger	C.N.R.S. – MONTPELLIER Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires
TARDIVEL Philippe	NOVELECT – Languedoc-Roussillon – MONTPELLIER
TRON Frédéric	Service Maritime des Bouches du Rhône – MARSEILLE Cellule Qualité des Eaux Littorales
UCHIMURA Masayuki	Université de Montpellier II – MONTPELLIER

In the sediments, the copper is associated with various fractions:

- Fraction 1: exchangeable, mainly constituted by clays.
- Fraction 2: carbonate-bound. This fraction would be susceptible to changes of

pH.

- Fraction 3: reducible. Copper is bound to Fe (III) and Mn (IV) oxides easily reducible. During early diagenesis, microbially mediated redox reactions will result in dissolution of these oxides and possible release of the associated copper.

- Fraction 4: oxidizable. Copper is bound to organic matter (notably humic and fulvic acids). Under oxidizing conditions, degradation of organic matter could solubilize significant amounts of copper.

- Fraction 5: residual. This fraction is composed of detrital silicate minerals, resistant sulphides and refractory organics. Metals bound in the residual phase are unlikely to be reactive during sedimentation and diagenesis, and thus have little potential bioavailability.

M. ROMEO pointed out that in seawater, the Cu^{2+} ion will be also complexed by organic chelates such as fulvic and humic acids, as well as algal extracellular material such as polyphenols produced by brown seaweeds (RAGAN & GLOMBITZA, 1986) and phytoplankton exudates (GNASSIA-BARELLI *et al.*, 1978). Complexation of copper with organic ligands was widely studied and demonstrated that the toxicity of copper is more closely related to the free Cu^{2+} ion activity, rather than to the total concentration of metal. The organic ligands must compete with inorganic ones such as OH^- and Cl^- which both form very stable species. It is also necessary to take into account the effects of micro-organisms which fix the Cu^{2+} ions and can also release some Cu^{2+} complexing molecules. For instance, McKNIGHT & MOREL (1982) have shown that such ligands, called siderophores, are synthesized by filamentous blue-green cyanobacteria.

Thus, complexation with a variety of naturally-occurring inorganic and organic ligands in the sea, can significantly reduce the availability and toxicity of copper in marine environment.

G. CHARMANTIER presented a bibliographical report dealing with the total copper concentrations in sea water. The average value is about $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$. But he estimated that in unpolluted marine waters, the copper level must be lower. The concentration of metals in coastal and estuarine areas tends generally to be higher than in the open sea, due to anthropogenic input (SAAGER *et al.*, 1997). For instance, high copper concentrations have been reported in polluted areas: $1.3\text{-}3.3 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the estuary of the Mersey, England (LASLETT, 1995), $1.3\text{-}6.7 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the coastal waters of Patras, Greece (KOLIADIMA & KARAIKAKIS, 1990), $850 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the waters of Hong Kong (WONG, 1993) and $810\text{-}1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the marshes of Reghaia, Algeria (BELABED *et al.*, 1994).

As in the seawater, the content of copper in the sediments is depending on the sites. Some values for various Mediterranean ecosystems are listed in table 2.

In conclusion of this part, C. GAVACH pointed out that in the marine environment, the total amount of copper is not representative of the potential toxicity of this element. A large fraction can be made inert by chemical reaction with other elements present in seawater and sediments.

Table 2. Mean, minimum and maximum values of copper in the sediment of different Mediterranean ecosystems.

Ecosystems	Cu ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$)	
	Mean value	Minimum and maximum values
Thau lagoon (France)	72	9.6 - 144.8
Mediterranean Sea	39.7	21 - 49.5
Adriatic Sea	-	2.3 - 58.1
Sicilian Channel	-	4 - 15
Oualidia lagoon (Morocco)	23	6 - 37
Pontine Islands lagoon (Italy)	23	2 - 42
Gulf of Venice (Italy)	15	-
Gulf of Fos (France)	30.8	6 - 109
Berre lagoon (France)	43.5	3 - 125

CYTO- AND PHYTO-TOXIC EFFECTS

G. CHARMANTIER contributed some information on the toxicity of copper for various crustaceans. Table 3 gives the values of the LC_{50} (lethal concentration for 50 % of the exposed individuals) reported in the literature. Changes in the lethal values can be related to various factors: the incubation time, size and age of the animal and salinity of the solution (the toxicity tends to increase when salinity decreases). In other groups, such as for instance in molluscs, one notes a great variability of the lethal concentration.

Subsequently, a broad summary of a thesis was given. The purpose of the study was to evaluate the effect of copper on the shrimp *Penaeus japonicus* (SOEGIANTO *et al.*, 1999). The development of this crustacean involves successive stages: larval (planktonic), postlarval (benthic) and the juvenile-adult phase. Table 4 shows that the copper toxicity is clearly dependent on the development stage of the crustacean. This study also demonstrated that exposure to copper resulted in structural damage to the gills and epipodites of late juvenile *P. japonicus*. A clear relation was established between the alteration of these structures and the impairment of osmoregulation.

The results of this study was based on low concentrations of copper and long incubation times. Concerning the impact of short exposure with higher concentrations, G. CHARMANTIER pointed out that even if the copper treatment did not affect the adults, it could induce irreversible impairment of the larval structure.

Table 3. Lethal concentration (LC₅₀) of copper for various crustacean species.

Species	Development Stage	Exposure time (h)	Temperature (°C)	Salinity (‰) SW: seawater FW: fresh water	LC ₅₀ (µg.L ⁻¹)
<i>Acartia clausi</i>	adult	96	-	SW	52
<i>Acartia tonsa</i>	adult	96	-	SW	17 - 55
<i>Daphnia pulex</i>	1 day	72	20	FW	24
<i>Daphnia ambigua</i>	-	72	20	FW	68
<i>Daphnia magna</i>	< 72 h	24	21	FW	105
<i>Allorchestes compressa</i>	adult	96	20	32	500
<i>Asellus meridianus</i>	adult	48	20	FW	1700
<i>Gammarus pseudolimnoeus</i>	adult	96	15	FW	9 - 22
<i>Noina macrocopa</i>	-	48	24-27	FW	80
<i>Noina irrasa</i>	-	48	20	FW	6
<i>Mysidopsis bahia</i>	adult	96	20	10	47
				30	85

Table 4. Lethal concentration (LC₅₀) of copper for *Penaeus japonicus* at various development stages.

Development stage		LC ₅₀ (µgCu.L ⁻¹)		
		Exposure time		
		24 h	48 h	96 h
Larva	Nauplii	20	1	
	Zoea I	6	3	
	Zoea II	86	17	2
	Zoea III	120	46	5
	Mysis I	125	57	1
	Mysis II	168	57	4
	Mysis III	256	72	17
Post-larva	PL 1	691	108	19
	PL 2	1063	647	151
	PL 3	1804	848	208
	PL 5	2014	1734	586
	PL 7	2240	1860	710
	PL 10	2597	1248	497
	PL 15	2639	1960	1448
Juvenile/Adult	SW	survival	2515	2046
	FW	survival	1773	1201

M. ROMEO gave some results of a study concerning the effect of trace metals on phytoplankton (ROMEO & GNASSIA-BARELLI, 1985). The copper toxicity was determined from the growth curves (fig.2). They show that the growth rate follows an exponential variation before reaching a plateau. For copper concentrations between 25 and 50 µg.L⁻¹, the growth of the phytoplanktonic species *Crisicosphaera elongata* is inhibited (cytostatic threshold). Various parameters (contact time, metal concentration, light) may influence the uptake of metals by phytoplankton. The phytoplankton species appears to be a predominant factor (tab. 5, ROMEO, 1985).

It is well-known that Cu like other metals may be an essential trace element for growth of living organisms. In the absence of these components, deficiency phenomena occur. At low concentration, growth is enhanced but it becomes inhibited with increasing concentration. Nevertheless, the analysis of the bio-accumulation data is delicate because many algae are able to maintain normal growth rates with high cellular trace metal levels. Research work (GEKELER *et al.*, 1988; ROBINSON, 1989) has shown

that internal binding was a principal metal tolerance mechanism developed by algae. Phytochelatins are synthesized in response to heavy metal exposure, allowing both bio-accumulation of trace metals and protection against metal toxicity. The high vulnerability of *Caulerpa taxifolia* to copper may be due to the fact that this alga does not produce phytochelatins able to complex copper. This hypothesis has to be confirmed experimentally.

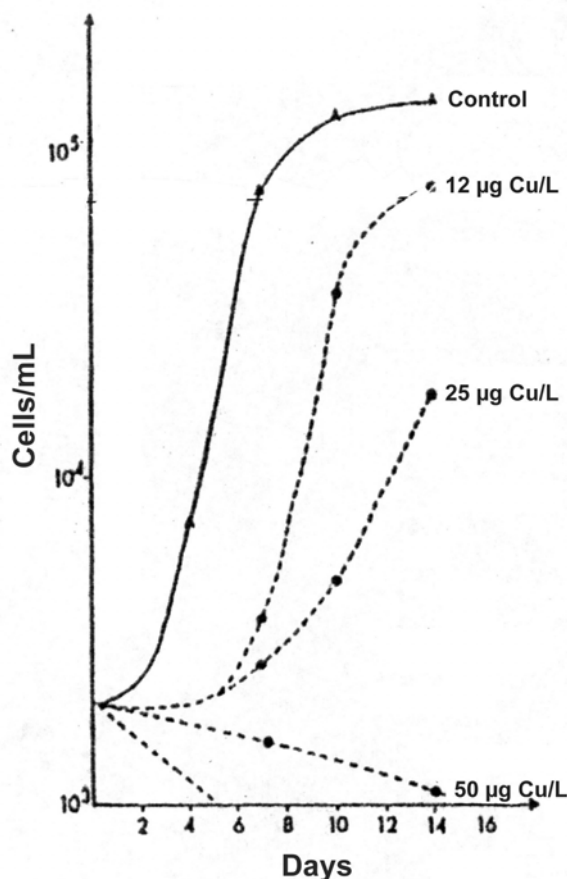


Figure 2. Experimental determination of cytostatic threshold of copper for the phytoplanktonic species *Cricosphaera elongata*.

Table 5. Toxic effect of trace metals on various phytoplankton species.

Phytoplanktonic species	Cytostatic threshold ($\mu\text{g.L}^{-1}$)			
	Cd	Cu	Hg	Sn
<i>Amphidinium carterae</i>	750-1000	15	10	2-4
<i>Prasinocladus marinus</i>	2000	25-50	-	-
<i>Chaetoceros curvisetum</i>	50	25-50	50	-
<i>Chaetoceros protuberans</i>	750	5	3	-
<i>Criscosphaera elongata</i>	400-500	25-50	75	18

M. UCHIMURA reported on part of his thesis work devoted to the toxic effects of copper for *Caulerpa taxifolia* (UCHIMURA *et al.*, 1998; BONNAL *et al.*, 2001). From the mortality curve and kinetics curves of copper accumulation by the alga, the lethal dose ranging from 800 to 1000 $\mu\text{gCu.gDW}^{-1}$, was obtained for *C. taxifolia*. This value corresponds to a content of about 1gCu per 10 kgFW. This result is very important because it determines the minimum amount of copper necessary to destroy *C. taxifolia* for any method based on toxicity of this element.

J.C. BACCOU specified that at the lethal dose, copper inhibits the photosynthesis of *C. taxifolia*, inducing the total destruction of both sub-units of the ribulose 1-5 biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO).

ANALYSIS AND REGULATION

The last part of this seminar was devoted to the analysis of copper in marine environment (liquid as well as sediments) and to the various aspects of regulation and legislation in relation to the topics.

F. TRON pointed out that man, being aware of changes that he has introduced into the environment, must be very careful. Scientific answers concerning the colonization of *Caulerpa taxifolia* and the impact of the control techniques are expected. It will also be necessary to take into account the economic consequences. Hasty decisions must be avoided.

In the ensuing discussion dealing with the legal standard for the acceptable copper content in the sediments, the GEODE convention was extensively cited. This text gives some recommendations concerning the level of pollution in dredged areas. It remains restricted and solely serves as guidelines.

Concerning the analysis of copper in sediments, there is no problem for the titration of this element, the protocols being well described. But the results depend on the sampling methods. Thus, it is necessary to define a standard method of sampling.

B. PICOT (PENA & PICOT, 1991) gave results of trace metals analysis in Thau lagoon sediments (fig. 3). These sediments contain copper which is of two origins: effluent from a plant producing copper sulphate and surface waters coming from surrounding vineyards which were regularly treated by copper. In places, the amount of copper exceeds 100 $\mu\text{g.gDW}^{-1}$. The profile of the copper concentration in the sediments reveals a maximum value corresponding to 15 cm depth (fig. 4).

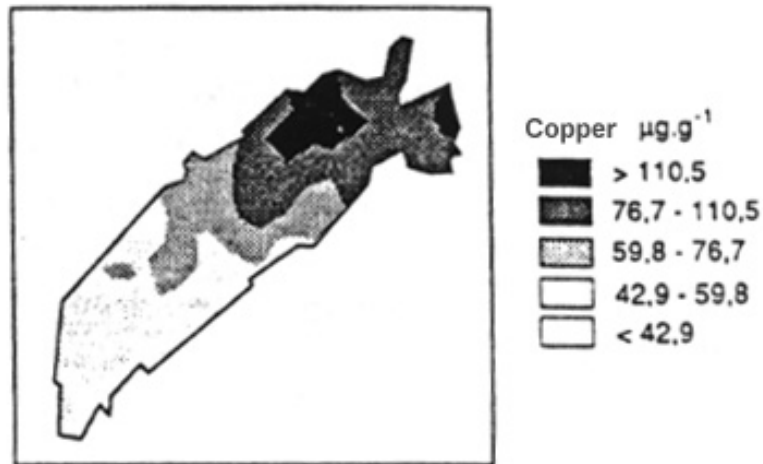


Figure 3. Spatial distribution of copper ($\mu\text{g.gDW}^{-1}$) in the Thau lagoon sediments.

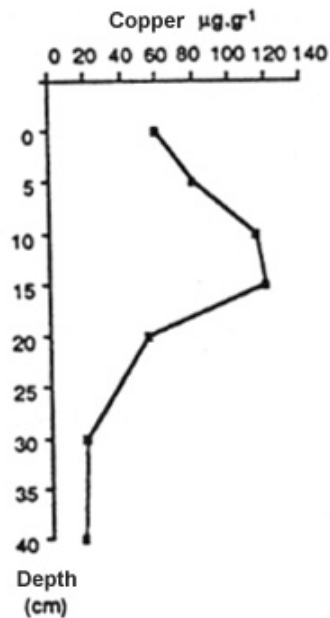


Figure 4. Core profile of copper values in the Thau lagoon, at station 26.

This example seems to demonstrate that a large amount of copper in the sediments, generated by earlier pollution, has no consequence on the intense conchylaceous activity of this ecosystem because in this case, the copper is completely inert.

CONCLUSIONS

From all the lectures and discussions, some consensual data can be distinguished.

The toxic effect of the cupric ion is clearly established. It acts on the flora as well as the fauna. This ion causes harmful effects in both the liquid volume and sediment layers which are living sites for many species.

However, the toxicity of this metal depends on its chemical speciation, the free Cu^{2+} form, not involved in chemical bonds, being the most toxic. This bioavailable form is generally a minor species in the marine medium because of the relatively stable chemical combinations of copper with both inorganic and organic compounds.

If a strategy to control the spreading of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea is to be adopted, the risks and benefits of each technique should be estimated. The effects of the copper techniques can be evaluated and localized. The copper treatment must be efficient enough to give 100 % mortality in order to avoid successive applications. The total amount of released copper will be minimized by rapid interventions at the first stage of development of new alga colonization.

REFERENCES

- BELABED W., KESTALI N., SEMSARI S., GAID A., 1994. Evaluation de la toxicité de quelques métaux lourds à l'aide du test daphnie. *Techniques et Sciences Méthodes* 89 : 331-335.
- BONNAL L., SANDEAUX R., SANDEAUX J., GAVACH C., UCHIMURA M., BACCOU J.C., COMBES J.F., GRAVEZ V., PALLUY F., 2001. Destruction of *Caulerpa taxifolia* by copper diffusion from textile covers. Study of copper toxicity and results *in situ*. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 281-288.
- GEKELER W., GRILL E., WINNACKER E.L., ZENK M.H., 1988. Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes. *Arch. Microbiol.* 150 : 197-202.
- GNASSIA-BARELLI M., ROMEO M., LAUMOND F., PESANDO D., 1978. Experimental studies on the relationship between natural copper complexes and their toxicity to phytoplankton. *Mar. Biol.* 47 : 15-19.
- KOLIADIMA A., KARAIKAKIS G., 1990. Coastal water pollution : dissolved heavy metals and suspended particulate matter. *Zeitschrift für Wasser Abwasser Forschung* 23 : 102-105.
- LASLETT R.E., 1995.- Concentrations of dissolved and suspended particulate Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in surface waters around the coasts of England and Wales and in adjacent seas. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 40 : 67-85.
- McKNIGHT D.M., MOREL F.M.M., 1982. Copper complexation by siderophores from filamentous blue-green algae. *Limnol. Oceanogr.* 25 : 62-71.
- PENA G., PICOT B., 1991. Métaux traces dans les sédiments d'une lagune méditerranéenne : l'étang de Thau. *Oceanologica Acta* 14 (5) : 459-472.
- RAGAN M.A., GLOMBITZA K.W., 1986. Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research*. Round and Chapman (Eds.). Biopress, Bristol : 129-241.
- ROBINSON N.J., 1989. Algal metallothioneins : secondary metabolites and proteins. *J. Appl. Phycol.* 1 : 5-18.

ROMEO M., 1985. Contribution à la connaissance des métaux traces (Cd, Cu, Hg, Pb, Zn) dans l'écosystème marin au niveau du plancton. Approches analytiques et expérimentales. *Thèse de Doctorat d'Etat*, Université de Nice Sophia-Antipolis : 172 pp.

ROMEO M., GNASSIA-BARELLI M., 1985. Metal uptake by different species of phytoplankton in culture. *Hydrobiologia* 123 : 205-209.

SAAGER P.M., De BAAR H.J.W., De JONG J.T.M., NOLTING R.F., SCHIJF J, 1997. Hydrography and local sources of dissolved trace metals Mn, Ni, Cu and Cd in the northeast Atlantic Ocean. *Marine Chemistry* 57 : 195-216.

SOEGIANTO A., CHARMANTIER-DAURES M., TRILLES J.P., CHARMANTIER G., 1999. Impact of copper on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology* 19 (2) : 137-151.

UCHIMURA M., BACCOU J.C., BONNAL L., SANDEAUX R., SANDEAUX J., GAVACH C., 1998. Etude comparative de l'action de l'ion cuivrique sur *Caulerpa taxifolia* et d'autres espèces végétales présentes en Méditerranée. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 95-99.

WONG C.K., 1993. Effects of cadmium, copper, nickel and zinc on longevity and reproduction of the cladoceran *Moina macrocopa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 50 : 633-639.

ZIRINO A., YAMAMOTO S., 1972. A pH-dependent model for the chemical speciation of copper, zinc, cadmium and lead in seawater. *Limnology and Oceanography* 17 (5) : 661-671.

DESTRUCTION OF *CAULERPA TAXIFOLIA* BY COPPER DIFFUSION FROM TEXTILE COVERS. STUDY OF COPPER TOXICITY AND RESULTS *IN SITU*

Laurent BONNAL¹, Roger SANDEAUX¹, Jacqueline SANDEAUX¹, Claude GAVACH¹, Masayuki UCHIMURA², Jean-Claude BACCOU², Jean-François COMBES³, Vincent GRAVEZ⁴ & Frédéric PALLUY⁴

¹ Laboratoire des Matériaux et Procédés Membranaires, UMR 5635, CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

² Laboratoire de Génie Biologique et Sciences des Aliments, UM II, Place Eugène Baraillon, 34095 Montpellier cedex, France

³ Médintec, 8 rue du Tilleul, 34290 Lieuran-les-Béziers, France

⁴ GIS Posidonie, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Case 901, 13288 Marseille cedex 09, France

ABSTRACT

The effect of the Cu²⁺, K⁺ and Na⁺ ions on *Caulerpa taxifolia* was studied. Depending on the experimental conditions (concentration and incubation time) a significant decrease in photosynthesis was observed. For the same incubation time, the concentrations corresponding to 100 % mortality were 15.10² to 10⁴ times lower for the Cu²⁺ than K⁺ and Na⁺ ions, the lethal dose of Cu²⁺ being about 800-1000 µgCu.gDW⁻¹. On the other hand, for the same copper concentration, the mortality of *Posidonia oceanica* was reached at times 15-350 times longer than those obtained with *Caulerpa taxifolia*. An immunoblot analysis of the ribulose 1-5 biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO), extracted from *Caulerpa taxifolia*, showed that both small and large sub-units were inhibited only by the Cu²⁺ and Na⁺ ions. From experiments performed *in situ* on various substrates, the parameters (copper amount, contact time, season) of the technique based on copper diffusion through textile covers, were optimized. The copper amount in sediments decreased with time; after one year, it was about 40 mg.kgDW⁻¹.

RÉSUMÉ

Une étude comparative de l'action des ions Cu²⁺, K⁺, Na⁺ a été effectuée sur *Caulerpa taxifolia*. Selon les conditions opératoires (concentration et temps de contact), une diminution importante de la photosynthèse est observée. Pour un même temps de contact, la mortalité de *Caulerpa taxifolia* apparaît à des concentrations en Cu²⁺ 15.10² à 10⁴ fois plus faibles que celles en K⁺ et Na⁺, la dose létale en cuivre étant de 800-1000 µgCu.gDW⁻¹. D'autre part, pour une même concentration en Cu²⁺, la mortalité de *Posidonia oceanica* apparaît à des temps 15 à 350 fois plus longue que ceux obtenus pour *Caulerpa taxifolia*. Une analyse de l'immunoblot de la ribulose 1-5 biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO), extraite de *Caulerpa taxifolia*, montre que la perte des deux sous-unités de cet enzyme n'apparaît qu'avec les ions Cu²⁺ et Na⁺. Les essais *in situ* sur différents substrats, ont permis de déterminer les meilleurs paramètres d'application des couvertures (charge en cuivre, temps de contact, période de l'année). La teneur résiduelle en cuivre dans les sédiments diminue de mois en mois ; un an après le traitement, elle est de l'ordre de 40 mg.kgMS⁻¹.

INTRODUCTION

The toxicity of copper was used by various techniques to destroy *Caulerpa taxifolia* (GAVACH *et al.*, 1998; UCHIMURA *et al.*, 1998). The aim of the present study is to partially elucidate the mechanism of action of copper on the *Caulerpa taxifolia* metabolism. To this end, the toxic effect of copper was compared with that of other cations such as potassium and sodium. The lethal doses were determined and the photosynthesis of the alga was studied from measurements of chlorophyll fluorescence and via the Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO, EC : 4.1.1.39) pathway.

Moreover, experiments were performed *in situ* on various substrates and under various experimental conditions in order to optimize the parameters of the technique based on copper diffusion through ion-exchange textile covers. The impact of the technique on the environment was analysed from copper measurements in sediment samples collected at the treated sites.

MATERIAL AND METHODS

Alga material and growth conditions

Caulerpa taxifolia was collected at Potinière beach (Hyères, Var, France) at 3 m depth. Samples were immediately transported to the laboratory in aerated containers maintained at ambient seawater temperature. In the laboratory, plants were cleaned and cultured in aquariums under controlled conditions of water temperature (20 ± 1 °C) and light intensity ($10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ with a 12 h photoperiod). The seawater in aquariums was sand-filtered and renewed every two weeks. Salinity and pH were 35 ± 1 ‰ and 8.1 ± 0.1 , respectively. *Caulerpa taxifolia* was acclimated in aquariums at least for two weeks prior to use in experiments.

Lethal dose

Caulerpa taxifolia samples of about 2 gFW, grown as previously described, were immersed in 250 mL seawater to which various amounts of copper sulphate, sodium or potassium chloride were added. The cation concentrations were expressed as added concentrations whatever the initial cation concentrations in seawater. After immersion in these solutions, each sample was washed three times by plain seawater and kept in 200 mL seawater renewed after 24 h. Observations were made every day during 14 days. Twenty replicates at least were used for each experiment.

Chlorophyll fluorescence measurements

Chlorophyll fluorescence measurements were performed with a Fluorescence Monitoring System (Model FMS1, Hansatech, UK). This apparatus allows the determination of fluorescence parameters, F_0 , F_m , F_v and F_v/F_m at room temperature.

After treatment with cations, alga samples were incubated in plain seawater for 30 min in the dark. The initial level (F_0) of chlorophyll fluorescence was measured using a

594 nm amber modulating beam and the maximum level (F_m) was induced by a 1s pulse of saturating white light ($10800 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Extraction of soluble proteins

After cation treatments ($10 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$, 1 h ; $20 \text{ g.L}^{-1} \text{ K}^+$, 3 h ; $20 \text{ g.L}^{-1} \text{ Na}^+$, 1 h), alga samples were frozen in liquid nitrogen and freeze-dried for conservation until biochemical analysis.

Crude enzymatic extracts from *Caulerpa taxifolia* were obtained according to NATO & MATHIEU (1978). 0.2 - 0.5 g of freeze-dried alga material were ground in a cold mortar and homogenised in an extraction buffer containing 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM MgCl_2 , 10 mM DTT and 0.2 mM PMSF. The homogenates were filtered through nylon cloth (36 μm mesh) and centrifuged at 120000 g for 15 min. The supernatant was used as a crude extract for RubisCO characterisation.

Western blot analysis of RubisCO

Western blots for RubisCO detection were carried out after SDS-PAGE electrophoresis in a 15 % polyacrylamide gel (LAEMMLI, 1970). The proteins were electrotransferred to PVDF membranes for 1 h using a semi-dry apparatus (Pharmacia LKB Multiphor II). Immunodetection of RubisCO on membranes was performed according to NATO *et al.* (1997) using polyclonal antibodies raised against RubisCO holoenzyme from tobacco (*Nicotiana tabacum*) green leaves.

Treatment *in situ*

12 textile covers, the area of each cover being 2.5 m^2 , were used as previously described (GAVACH *et al.*, 1998). Various copper amounts and contact times were tested. Before and after application of covers, the amount of copper was analysed in sediments.

Sediment samples were collected using a plexiglass cylinder, 8 cm diameter, at 10 cm depth. The sediments cores were subsequently dried at $80 \text{ }^\circ\text{C}$, ground in a mortar, sieved through a 2 mm mesh, separated into fractions of $30 \pm 10 \text{ g}$. Each fraction was ground with a mortar-mill giving powder with grain size $< 200 \mu\text{m}$. 100 mg powder samples were digested with 0.5 mL of H_2O , 1.5 mL of 32 % HCl and 0.5 mL of 65 % HNO_3 . The solution was maintained at $150 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ for 2 h and filtered. Deionized water was added up to 100 mL. The copper concentration in the extracts was determined by plasma spectroscopy (ICP JY 24).

RESULTS

Lethal dose

The concentrations of incubation solutions giving 100 % mortality of *Caulerpa taxifolia* are collected in table 1 for the same contact time. These results allow the comparison between the three studied cations. As expected, the toxic effect of the Cu^{2+} ion occurred for very low molar concentrations, thus about 15×10^2 to 10^4 times lower than those of K^+ and Na^+ ions. From the mortality curve and kinetics curves of copper accumulation

by *Caulerpa taxifolia*, the lethal dose of copper was obtained (fig.1 and 2). The value is about 800-1000 $\mu\text{gCu.gDW}^{-1}$.

On the other hand, table 2 shows that for the same copper concentration, the mortality of *Posidonia oceanica* was reached for incubation periods 15-350 times longer than those obtained with *Caulerpa taxifolia*.

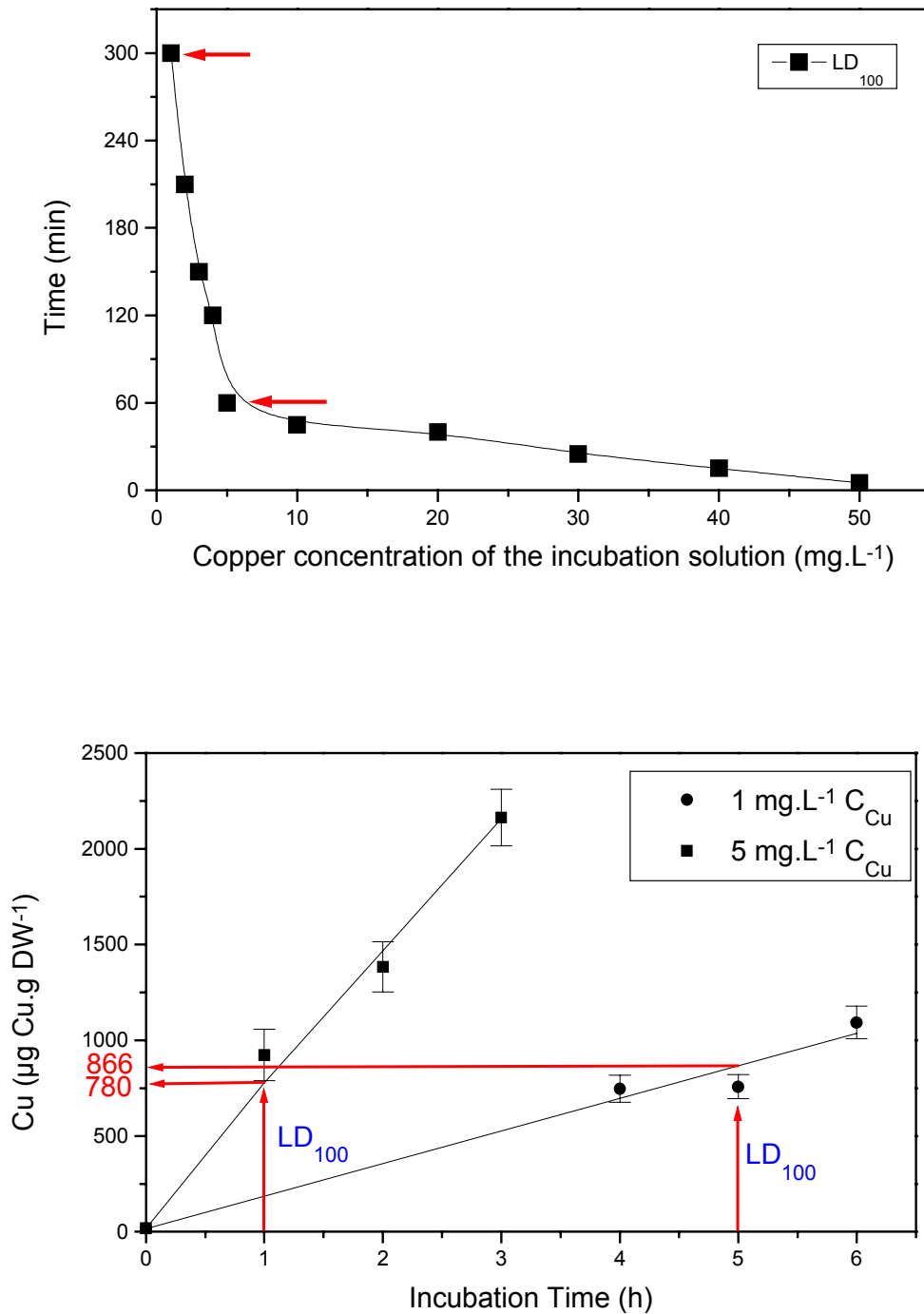


Figure 1. Determination of the lethal dose of copper from mortality curve and kinetics curve of copper accumulation by *Caulerpa taxifolia*.

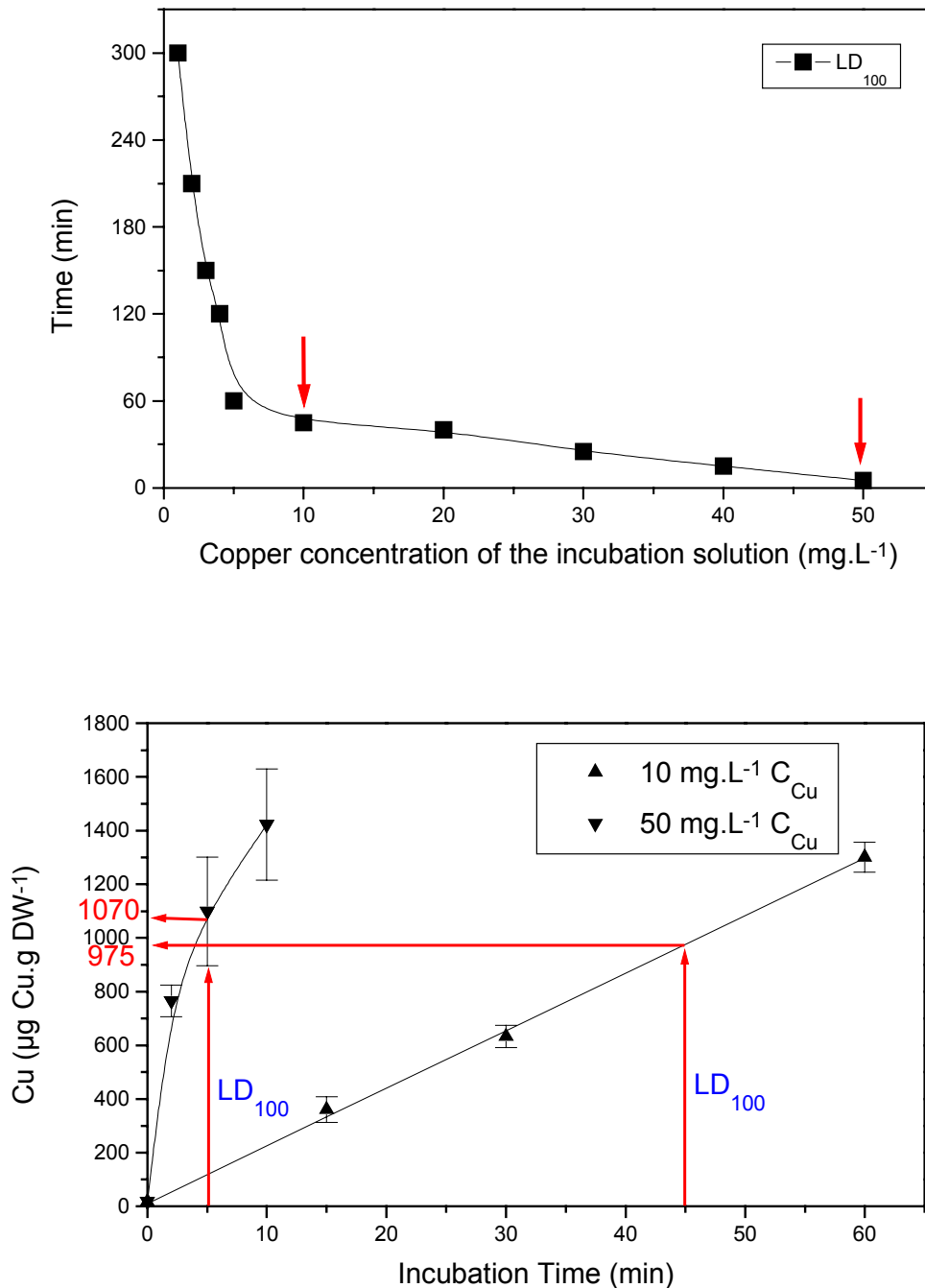


Figure 2. Determination of the lethal dose of copper from mortality curve and kinetics curve of copper accumulation by *Caulerpa taxifolia*.

Chlorophyll fluorescence measurements

The values of variable to maximum fluorescence ratio, F_v/F_m , were plotted as a function of the incubation period in figure 3. The decline in the F_v/F_m ratio which decreased down to zero depending on the experimental conditions, represents damage in photosystem II (KRAUSE & WEIS, 1991).

Table 1. Concentration of Cu^{2+} , K^+ and Na^+ ions to obtain 100 % mortality of *Caulerpa taxifolia*.

Duration of treatment (min)	Concentration					
	Cu^{2+}		K^+		Na^+	
	(g.L ⁻¹)	(mol.L ⁻¹)	(g.L ⁻¹)	(mol.L ⁻¹)	(g.L ⁻¹)	(mol.L ⁻¹)
15	0.05	0.0008	-	-	30	1.3
30	0.02	0.0003	30	0.8	24	1
60	0.005	0.00008	27	0.7	18	0.8

Table 2. Concentration of Cu^{2+} ions to obtain 100 % mortality of *Caulerpa taxifolia* and *Posidonia oceanica*.

Cu^{2+} concentration (mg.L ⁻¹)	Duration of treatment	
	<i>Caulerpa taxifolia</i>	<i>Posidonia oceanica</i>
1	5 h	70 h
5	1 h	50 h
10	45 min	50 h
50	5 min	30 h

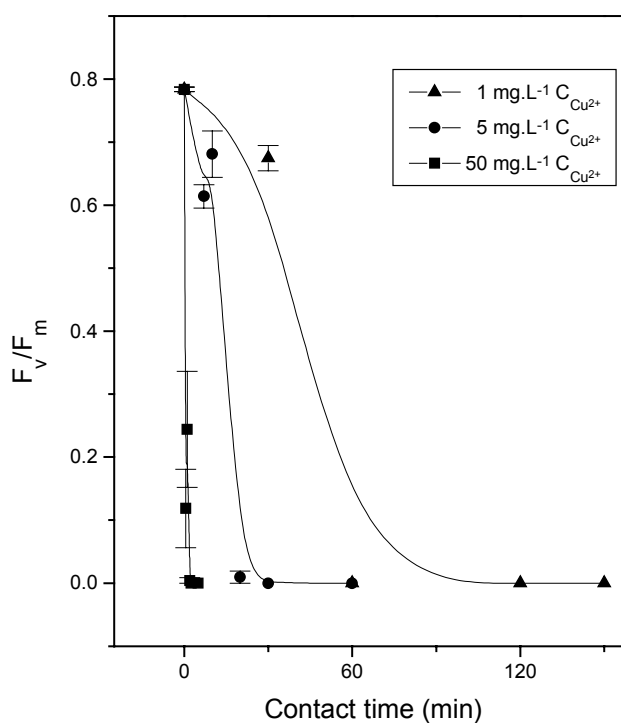


Figure 3. Fluorescence of *Caulerpa taxifolia* subjected to copper treatment.

Western blot analysis of RubisCO

RubisCO is a highly abundant protein located within the chloroplasts of algae and green leaves. It is a bifunctional enzyme that catalyses two competing reactions, photosynthetic CO_2 fixation and photorespiratory carbon oxidation, and consequently

plays a pivotal role in photosynthesis and photorespiration (ANDREWS & LORIMER, 1987).

Figure 4 shows the immunoblot analysis of RubisCO from crude extracts of *Caulerpa taxifolia*. Lane 2 gives a positive control, showing that antibodies raised against RubisCO from tobacco leaves are able to recognise both LSU and SSU of RubisCO extracted from *Caulerpa taxifolia*. Respective molecular weights of RubisCO sub units (54 kDa for LSU and 14 kDa for SSU) are similar in *Caulerpa* and in tobacco control (lane 6).

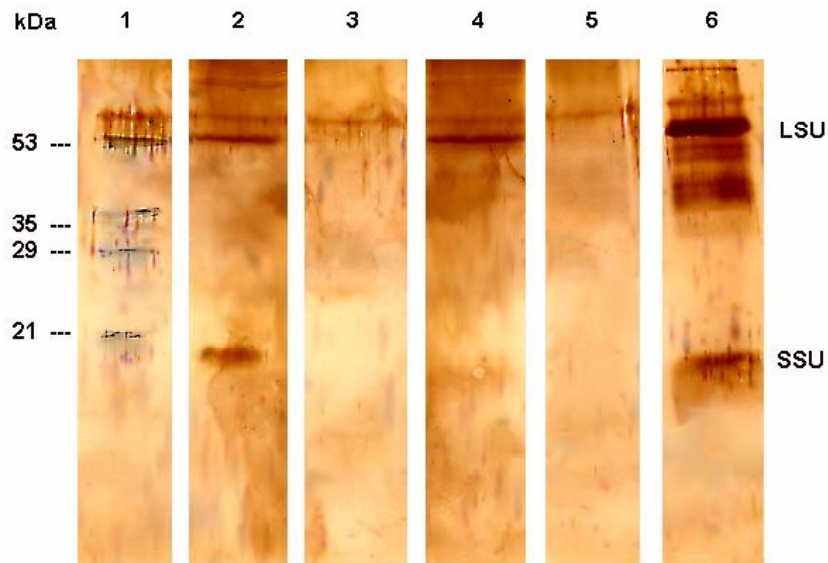


Figure 4. Western blot analysis of RubisCO from *Caulerpa taxifolia* subjected to various cation treatments. Lane 1, molecular-weight markers ; lane 2, *Caulerpa taxifolia* control ; lane 3, treatment with copper (10 mg.L^{-1} , 1 h) ; lane 4, treatment with potassium (20 g.L^{-1} , 3 h) ; lane 5, treatment with sodium (20 g.L^{-1} , 1 h) ; lane 6, standard RubisCO purified from tobacco (*Nicotiana tabacum*).

Lanes 3, 4 and 5 show results obtained from *Caulerpa taxifolia* after treatment by Cu^{2+} , K^+ and Na^+ , respectively. It is interesting to observe that exposure to Cu^{2+} (10 mg.L^{-1} , 1 h) and Na^+ (20 g.L^{-1} , 1 h) induce the total destruction of both sub-units while K^+ treatment (20 g.L^{-1} , 3 h) affects preferentially the SSU, the LSU being almost unaffected. The degradation of RubisCO enzyme can be explained by an oxidative phenomenon (MEHTA *et al.*, 1992).

Results of treatment *in situ*

Textile covers were applied on various substrates, sand, rocks, *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* beds, at the following sites : Lagune du Brus, Ile de Porquerolles, Ile de Port Cros, Anse Méjean. During the open sea tests, we could confirm the easy handling and flexibility of the covers, and their adaptability to treat all kinds of relief and substrate, except *Posidonia oceanica* meadows because of their thickness. An amount of at least 1 gCu per 10 kgFW must be brought by the cover, the longest contact time is 24 h and the best season for treatment is the summer. The amount of copper remaining in sediments decreased with time; after one year, it was about $40 \text{ mgCu.kgDW}^{-1}$.

CONCLUSIONS

This study allowed determination of the lethal dose of copper giving 100 % mortality of *Caulerpa taxifolia*. This copper amount (about 800-1000 $\mu\text{gCu.gDW}^{-1}$) inhibited the photosynthesis of the alga inducing the total destruction of both sub-units of the RubisCO enzyme.

A technique based on this copper toxicity was developed to control the spread of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean. The method using ion-exchange textile covers allowing the diffusion of cupric ions from only one face directly in contact with the alga, was tested *in situ*. The copper amount remaining in sediments decreased with time; after one year, it was about 40 mgCu.kgDW^{-1} . Because of its efficiency and easy handling, the technique appears to be well-suited for treatment of isolated patches.

REFERENCES

- ANDREWS J.T., LORIMER G.H., 1987. RubisCO : structure, mechanisms and prospects for improvement. *The Biochemistry of plants*. Academic Press, New York, Vol. 10 : 132-219.
- GAVACH C., BONNAL L., UCHIMURA M., SANDEAUX R., SANDEAUX J., SOUARD R., LAMAZE B., LASSERRE J.C., FOUGAIROLLE C., COMBES J.F., GRAVEZ V., 1998. Destruction de *Caulerpa taxifolia* par la technique de la couverture à ions cuivriques. Développement pré-industriel et premiers essais. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 101-104.
- KRAUSE G.H., WEIS E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42 : 313-349.
- LAEMMLI U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685.
- MEHTA R.A., FAWCETT T.W., PORATH D., MATTOO A.K., 1992. Oxidative stress causes rapid membrane translocation and *in vivo* degradation of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase. *Journal of Biological Chemistry* 267 (4) : 2810-2816.
- NATO A., MATHIEU Y., 1978. Changes in Phosphoenolpyruvate Carboxylase and Ribulose-bisphosphate Carboxylase activities during the photoheterotrophic growth of *Nicotiana tabacum* (cv Xanthi) cell suspensions. *Plant Science Letters* 13 : 49-56.
- NATO A., MIRSHAHI A., TICHTINSKY G., MIRSHAHI M., FAURE J.P., LAVERGNE D., DE BUYSER J., JEAN C., DUCREUX G., HENRY Y., 1997. Immunological detection of potential signal-transduction proteins expressed during wheat somatic tissue culture. *Plant Physiology* 113 : 801-807.
- UCHIMURA M., BACCOU J.C., BONNAL L., SANDEAUX R., SANDEAUX J., GAVACH C., 1998. Etude comparative de l'action de l'ion cuivrique sur *Caulerpa taxifolia* et d'autres espèces végétales présentes en Méditerranée. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 95-99.

PROCÉDÉ INDUSTRIEL D'ÉRADICATION DE *CAULERPA TAXIFOLIA* PAR DIFFUSION D'ALGICIDE AU CONTACT DE L'ALGUE : DÉVELOPPEMENTS, ÉVALUATIONS ET PERSPECTIVES

J. P. CHARRIN¹, E. EMERY² & V. GRAVEZ³

¹ NOVELEC Provence-Alpes-Côte d'Azur, 12 Bis Boulevard Pébre, 13569 Marseille Cedex 08, France

² IFREMER, Centre de Toulon, Zone Portuaire de Brégaillon, BP 330, 83607 La Seyne-sur-Mer Cedex, France

³ GIS Posidonie, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Case 901, 13288 Marseille cedex 09, France

ABSTRACT

A new method of eradication, to control the expansion of *Caulerpa taxifolia*, was based on an algicide brought directly into contact with the algae. This method was easy to use, even on large surfaces and limits the impact on the marine environment.

RÉSUMÉ

Afin de contrôler l'expansion de *Caulerpa taxifolia*, une nouvelle méthode d'éradication par diffusion d'un algicide directement au contact de la plante est présentée. Cette méthode permet d'obtenir une solution facilement mise en œuvre, pour des surfaces traitées importantes et en limitant l'impact sur le milieu marin.

INTRODUCTION

Depuis l'apparition de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh sur les côtes méditerranéennes françaises de nombreuses études ont été réalisées depuis 1992 essentiellement sur sa localisation, sa vitesse d'expansion, sa toxicologie, et son impact sur l'ensemble du milieu marin. D'autre part, des recherches ont été entreprises pour mettre au point des méthodes d'éradication afin contrôler son expansion, à des coûts acceptables, et ayant peu d'effets sur la faune et la flore.

Dans le cadre de ces recherches, l'étude d'un algicide pour lutter contre *Caulerpa taxifolia* a été mise en œuvre. Nous nous sommes limités à l'utilisation du cuivre comme algicide sélectif pour détruire cette algue.

Le laboratoire de l'IFREMER de la Seyne-sur-Mer a apporté son soutien afin que l'évaluation du prototype puisse se faire à un niveau comparable à celui des autres techniques d'éradication en cours de développement dans le cadre du programme LIFE.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La première étape a consisté à fabriquer un appareil de petite taille facile à manipuler pour étudier les problèmes de diffusion et les différents paramètres intervenant sur l'éradication de *Caulerpa taxifolia* par le cuivre.

Ce prototype est constitué de deux parties :

- un bloc de dosage du produit et un système d'injection par pompe électrique ;
- une cloche semi-rigide d'une surface de 1 m² munie d'un système de diffusion capable de délimiter de manière étanche la surface de traitement.

Cet appareil a permis avec précision de déterminer :

- les doses d'algicide en mg.L⁻¹ à employer dans le produit de traitement ;
- de faire varier la hauteur sur la zone traitée ;
- de déterminer le temps de contact nécessaire de l'algicide avec l'algue ;
- de voir, grâce au traceur incorporé à l'algicide, ses mouvements et sa dilution ;
- de constater, en fonction de ces paramètres, les effets sur l'algue.

Devant les difficultés rencontrées pour maintenir de manière homogène le produit au contact de *Caulerpa taxifolia* pendant un temps suffisant (20 à 30 min), il a été nécessaire d'étudier la possibilité d'emprisonner l'algue à traiter dans une poche de liquide contenant l'algicide et ayant peu d'échange avec le milieu marin. Pour cela, nous avons utilisé un produit comportant de l'eau de mer saturée en sel (densité supérieure à celle de l'eau de mer du milieu environnant) et mélangée de manière homogène avec l'algicide et le traceur. Ce produit de traitement doit être déposé sur le fond où le traitement doit être effectué dans des conditions bien définies afin créer une couche limite stable.

A partir de ces résultats, un deuxième type d'appareil a permis de faire varier la densité du produit de traitement.

Pendant l'été 1997, période de croissance de *Caulerpa taxifolia*, une série d'essais dans la lagune du Brusca a permis de déterminer les effets du traitement en fonction des paramètres suivants :

- le nombre de mg.L⁻¹ de l'algicide (cuivre) sous forme de sulfate de cuivre ;
- le temps de traitement ;
- les effets liés à la densité du produit.

Par la suite, nous avons dissocié le bloc de préparation et d'injection du produit du système d'application, cela afin de rendre plus facile sa mise en œuvre. Cette étape a permis de tester deux autres possibilités de mise en œuvre du procédé. En effet, en jouant sur la densification du produit et en créant une couche limite dense du produit, qui en absence de mouvement de la masse d'eau ne diffuse pas dans le milieu marin, une application en milieu ouvert a pu être expérimentée.

Cette méthode consiste, au préalable, à placer un barrage immergé pour délimiter la zone de traitement, puis de déterminer les caractéristiques du produit de traitement en

fonction de la hauteur de dilution souhaitée et de mettre en œuvre avec le diffuseur approprié la couche limite sur toute la surface prévue.

Cette méthode nécessite des conditions particulières pour une bonne mise en œuvre. La zone à traiter doit être proche de l'horizontale et l'agitation de l'eau au niveau de l'algue doit être faible. En fonction du relief du fond marin, il est nécessaire de placer les barrages immergés sur les différentes courbes de niveau avec une dénivelée de 20 à 30 cm au maximum. Cette méthode semble particulièrement convenir aux zones portuaires qui possèdent un nombre important d'obstacles.

La troisième possibilité de mise en œuvre est de déposer autour de la zone à traiter une poche de produit suffisamment stable pour que les conditions de concentration de l'algicide et le temps de contact soient suffisants à l'éradication de *Caulerpa taxifolia*. Cette solution nécessite une densité de produit importante avec un appareil de diffusion adapté au milieu. Cette méthode correspond au traitement des touffes isolées de l'algue, ou d'un début de colonisation sur la matte morte de *Posidonia oceanica* par exemple.

Par la suite, nous avons mis au point un système embarqué de type prototype industriel afin de tester les trois possibilités de mise en œuvre décrites précédemment. Ce prototype permet d'utiliser des volumes de produit de traitement importants, de traiter des surfaces de plusieurs m² et d'utiliser un produit de traitement dont les caractéristiques sont précises et homogènes sur l'ensemble de l'essai.

D'autre part, afin de permettre une diffusion en continue du produit, le système de commande peut diffuser à partir d'un premier réservoir le produit prêt à l'emploi tout en préparant le nouveau produit, dans un second réservoir.

Un essai a été effectué à Hyères le 24 février 1998 avec IFREMER pour connaître les limites d'utilisation de cette méthode sur *Caulerpa taxifolia*. A cette saison l'algue présente des frondes très réduites et partiellement nécrosées. Cela, a nécessité des doses en moyenne trois fois supérieures au traitement d'été.

RÉSULTATS

Compte rendu d'IFREMER sur l'essai du 14 février 1998 à Hyères

Les essais réalisés sur le site de "la Potinière" (Hyères), en février 1998, ont été réalisés afin de répondre à 3 objectifs :

- poursuivre la mise au point technique du procédé, en particulier sur le plan de sa mise en œuvre sur site (en mer ouverte) en plongée scaphandre ;
- évaluer l'efficacité du traitement sur *Caulerpa taxifolia* en hiver, période d'atrophie des frondes, pour deux concentrations d'algicide ;
- apprécier l'évolution des teneurs en cuivre dans le milieu marin après traitement.

La zone d'étude est l'anse de "la Potinière" (LP), orientée est / sud est, entre la digue sud du port de Hyères et un enrochement en épi. Ce site est un lieu de mouillage très fréquenté en été et est colonisé depuis 1989.

Deux zones d'essai relativement horizontal ont été choisies, d'une surface approximative de 6 m² chacune, à des profondeurs comprises entre 1.7 et 2.2 m.

Sur ces deux zones, on observe un treillis dense de stolons de *Caulerpa taxifolia* et de rares frondes d'une longueur maximum de 1 cm, partiellement nécrosées. La nature du substrat, identique dans les deux sites, est de la matte morte de Posidonie recouverte par une épaisseur variable de sable moyen à grossier.

Les prélèvements de sédiments ont été réalisés à l'aide d'un tube de carottage en aluminium, de 40 mm de diamètre. Un prélèvement de sédiment au centre de chaque zone a été effectué avant le traitement avec l'algicide. Après traitement, 4 prélèvements ont été effectués à J+1, J+7, J+14 et J+20 jours.

Pour ces essais, l'application de l'algicide est opérée à l'aide d'une canne munie d'un diffuseur en forme de râteau, maintenu sur le fond par un plongeur qui balaye ainsi toute la surface à traiter. Pour éviter la dispersion du produit, des barrages verticaux ont été préalablement mis en place en périphérie. Deux plongeurs ont ainsi pu traiter 12 m² en moins d'une heure.

Deux concentrations différentes de Sulfate de cuivre ont été utilisées :

- 30 g.L⁻¹ de CuSo⁴ (eau de mer + CuSo⁴ + NaCl) pour LP1, soit environ 24 gCu⁺⁺.m⁻².
- 20 g.L⁻¹ de CuSo⁴ pour LP2, soit environ 16 gCu⁺⁺.m⁻².

Dans un premier temps, les observations visuelles ont permis de constater l'efficacité du traitement d'éradication. A J+1, aucun effet n'est apparent, si ce n'est la mortalité importante de la macrofaune benthique (vers, annélides, crustacés, gastéropodes et échinodermes). A J+7, la totalité des stolons et des frondes de *C. taxifolia* est nécrosée sur les deux zones. Malgré la légère repousse de quelques frondes (coloration verte) à J+14 et J+20, le 13 juin, 4 mois après traitement, 95 % de *C. taxifolia* sur LP1 étaient éradiqués et 80 % sur LP2, sans tenir compte de la recolonisation périphérique.

Il est intéressant de noter que, par comparaison avec d'autres essais réalisés avec le même procédé en phase de croissance, la nécrose des stolons et des rares frondes est apparue plus tardivement. L'algicide ainsi appliqué et dosé a certainement eu un effet sur les stolons et les rhizoïdes enfouis.

Le dosage du cuivre dans les 34 prélèvements de sédiment a été confié à un laboratoire d'analyse rattaché à l'Ecole de Chimie de Marseille, selon un mode opératoire classique. Les résultats obtenus montrent une dispersion du cuivre en fonction des points de prélèvement, qui peut s'expliquer par la variation importante de la fraction fine (< 62 µm) d'un prélèvement à l'autre. Le retour à des concentrations en cuivre équivalentes à l'état initial, dans le sédiment, a lieu 14 jours après traitement.

Essai de juillet 1998

Un autre essai a été effectué dans la calanque de Méjan en juillet 1998 avec le concours d'IFREMER et du GIS Posidonie. Il a permis de comparer les résultats obtenus, dans un milieu relativement agité, par la technique d'application ouverte avec l'aide de barrage et celle de type fermé avec une cloche souple de diffusion d'une surface de 3 m².

Les difficultés de créer une couche limite de traitement stable à cause des mouvements de l'eau a mis en évidence l'intérêt des cloches souples, tant au niveau de sa mise en œuvre que des résultats sur l'éradication de *Caulerpa taxifolia* (98 % pour la cloche souple, 80 % pour le barrage). La méthode en système ouvert reste cependant très intéressante pour des zones telles que les ports où le déploiement des cloches souples serait rendu difficile par les nombreux obstacles.

Système fermé

Pour diminuer les coûts de mise en œuvre dans ce système il est nécessaire de fabriquer quatre à cinq cloches souples d'une dizaine de mètres carrés avec un système d'enroulement lestable pour avoir un traitement en continu.

En effet, on peut estimer que le temps nécessaire à la dépose d'un élément de 10 m² par enroulement sur son support et sa pose sur une autre zone à traiter est de l'ordre de 10 min avec 2 plongeurs. Le temps d'injection du produit est réalisé en 5 min, ce qui fait au total 15 min. Avec des temps de traitement pouvant varier de 30 min à 1 heure, il est nécessaire d'avoir au minimum 5 éléments pour ne pas être ralenti dans le déroulement des opérations durant la phase de traitement. Un opérateur de surface est nécessaire pour fabriquer en continu le produit à diffuser et coordonner les différentes opérations. En routine, on peut estimer qu'une équipe de 2 plongeurs plus une personne dans le bateau peuvent traiter de l'ordre de 40 m² à l'heure en utilisant ce système fermé.

Système ouvert

Dans ce cas le système est constitué de barrages immergés placés en limite de la zone à traiter et sur les différentes courbes de niveaux. Cette méthode est principalement utilisable en milieu protégé comme les ports.

Système libre

Dans ce cas le type de diffuseur est très important pour pouvoir déposer sans agitation le produit autour de la plante. Cela correspond à des taches très petites et au milieu d'autres algues où la pose de cloches souples serait difficile.

CONCLUSIONS

A partir de ces résultats le passage à l'application industrielle est facilement réalisable et devrait permettre de mieux mesurer à terme l'impact de cette méthode sur le milieu marin. A noter que le milieu fermé permet de diminuer de plus de 50 % le volume d'algicide nécessaire à l'éradication du fait de la réduction de la hauteur de la poche de produit par le poids de la cloche souple. D'autre part, une fois le temps de traitement

écoulé, il est nécessaire de diluer l'algicide rapidement pour revenir à des concentrations acceptables pour la faune et la flore.

Remerciements : Ce travail de recherches a pu être mené à bien grâce à l'aide de l'Ecole Supérieure de Chimie de Marseille, du laboratoire ZANETTA de Lyon, du laboratoire côtier d'IFREMER à la Seyne-sur-Mer et du GIS POSIDONIE pour les expérimentations *in situ*.

PRELIMINARY DATA ON THE FOOD SELECTION OF *OXYNOE OLIVACEA* (MOLLUSCA, OPISTHOBRANCHIA, SACOGLOSSA)

Paola GIANGUZZA¹, Kathe JENSEN², Renato CHEMELLO¹ & Silvano RIGGIO¹

¹ Dipartimento di Biologia animale dell'Università, via Archirafi 18, I-90123 Palermo, Italia

² Zoological Museum, Copenhagen, Denmark

Key words: *Oxynoe olivacea*, *Caulerpa* spp., feeding, introduced species, marine coevolution

ABSTRACT

In this study we investigated the food preferences of *Oxynoe olivacea* using both *Caulerpa prolifera* and *Caulerpa taxifolia* as food items and also evaluated the possible adaptations of this ascoglosse to the new food. Results prove strongly that *O. olivacea* preferred the native *C. prolifera* to the introduced *C. taxifolia*.

RÉSUMÉ

Nous avons étudié les préférences alimentaires d'*Oxynoe olivacea* en utilisant, à la fois, *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa prolifera* comme alimentation. Nous avons ainsi évalué les adaptations de cet ascoglosse en présence d'une nourriture nouvelle. Les résultats montrent clairement que *O. olivacea* préfère l'espèce native *C. prolifera* à l'espèce introduite *C. taxifolia*.

INTRODUCTION

Oxynoe olivacea (Rafinesque, 1819) is an endemic Mediterranean ascoglosse belonging to the family Oxynoidae. In this family the shell is reduced but is not internal and covers only the visceral mass. *O. olivacea* has a planktotrophic development with a veliger larva (JENSEN, 1998). The species of the genus *Oxynoe* show a pronounced stenophagy feeding exclusively on the cytoplasm of the green algae genus *Caulerpa* (JENSEN, 1993).

Before the spread of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh and *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh in Mediterranean Sea, *Oxynoe olivacea* ate only the indigenous *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamour. A newly established *C. taxifolia* stand, grazed by *O. olivacea* (GIANGUZZA *et al.*, 1999), was reported from a littoral site in the Straits of Messina (FRADÁ ORESTANO *et al.*, 1994). Following this encroachment of *C. taxifolia*, we have investigated the food preferences of *O. olivacea* using both *C. prolifera* and *C. taxifolia* as food items and also evaluated the possible adaptations of *O. olivacea* to the new food.

MATERIAL AND METHODS

Thirty five *Oxynoe olivacea* were collected on 15 October 1998 with *Caulerpa taxifolia* at Punta Faro in the Straits of Messina and maintained in the laboratory. *Caulerpa prolifera* was collected at Santa Panagia bay (South East Sicily) on 12 October 1998.

When not used for experiments, animals were kept at ambient light and temperature regimes in 35 l aquaria, with fresh food algae. All specimens were maintained on a diet of *Caulerpa prolifera* for one week and afterwards, a series of pairwise choice experiments were conducted to test whether or not the slugs preferred to consume just one alga. Before starting experiments all *Oxynoe olivacea* were starved for two hours. We used five specimens for each experiment and a total of seven experiments were run. Equal masses of the two *Caulerpa* spp. (~ 5 g wet weight) were placed on the opposite edges of a 20 cm dish with filtered seawater and five slugs were arranged in the centre of the capsula. The number of Ascoglosses on algal hosts is an index of feeding preferences (TROWBRIDGE, 1992) and it was recorded until either all animals had found food, or no more changes occurred. The results of all experiments were combined and analysed by non-parametric statistics using chi-square analysis: the observed and the expected frequencies of animals on each algal species were calculated.

RESULTS

All *Oxynoe olivacea* used in the food preference experiments headed towards the food and started feeding. The experiments lasted from 30 min to 70 min. When tests were done we found high values of significance ($p < 0.001321$) and *O. olivacea* strongly preferred the native *Caulerpa prolifera* to the introduced *Caulerpa taxifolia* (Tab. I).

Table I. Results of food preference experiments: Observed vs. Expected frequencies.

Chi-Square = 10,31429 df = 1 p < ,001321				
	Observed frequencies (O)	Expected frequencies (E)	O - E	(O-E)**2/E
N° <i>Oxynoe olivacea</i> on <i>Caulerpa prolifera</i>	27	17.5	9.5	5.15714
N° <i>Oxynoe olivacea</i> on <i>Caulerpa taxifolia</i>	8	17.5	-9.5	5.15714
Sum	35	35	0	10.31429

DISCUSSION

In the laboratory a marked preference for *Caulerpa prolifera* is exhibited by all *Oxynoe olivacea*, while *Caulerpa taxifolia* is consumed in smaller amounts. In the field however, the greatest number of specimens was found on *C. taxifolia*, suggesting that *O. olivacea* is likely to shift to new host algae: in our case a potential exploitation of *C. taxifolia* is under way.

Acknowledgements: We would like to thank Dr. V. DI MARTINO for his assistance in the field.

REFERENCES

FRADÁ ORESTANO C., CALVO S., FERRERI B.M.R., 1994. First record of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Southwestern Mediterranean. *Giorn. Bot. Ital.* 128 (3-4) : 813-815.

GIANGUZZA P., DI MARTINO V., JENSEN K., RIGGIO S., 1999. Notes on the biology and population dynamics of *Oxynoe olivacea* (Mollusca). *Abstract IX Congresso S.I.T.E Lecce 13-17 Settembre 1999* : 175.

JENSEN K.R., 1993. Morphological adaptations and plasticity of radular teeth of the Sacoglossan (Ascoglossa) (Mollusca : Opisthobranchia) in relation to their food plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 48 : 135-155.

JENSEN K.R., 1998. Anatomy of some opisthobranch molluscs from Phuket, Thailand, with a list of Opisthobranchia recorded from Thai waters. *Proceedings of the eighth Workshop of the Tropical Marine Mollusc Programme, Thailand, 18-28 August 1997. Part 2., 1998, vol. 18 (2) : 243-262.*

TROWBRIDGE C.D., 1992. Mesoherbivory : the ascoglossan sea slug *Placida dendritica* may contribute to the restricted distribution of its algal host. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 83 : 207-220.

PRELIMINARY COMPUTER MODEL OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF *CAULERPA TAXIFOLIA*

Thierry THIBAUT¹, Patrick COQUILLARD², Jean de VAUGELAS¹, Yann
COQUILLARD³

¹ Laboratoire Environnement Marin Littoral, Université de Nice-Sophia Antipolis, Parc
Valrose, 06108 Nice cedex 02, France

² Laboratoire d'Ecologie Végétale et Cellulaire, Université d'Auvergne, P.O. Box 38,
63000 Clermont-Ferrand cedex 1, France

³ GIS Posidonie, Parc Scientifique & Technologique de Luminy, Case 901, 13288
Marseille cedex 9, France

Key words: *Caulerpa taxifolia*, *Elysia subornata*, biological control, Mediterranean
Sea, modelling.

ABSTRACT

The alga *Caulerpa taxifolia* has been spreading since 1984 in the Mediterranean Sea. It is a dominant and invading marine pest which is reducing the biodiversity of the out-competed biocenoses. Since 1994, a biological control campaign has been planned using a tropical ascoglossan mollusc: *Elysia subornata*. However, to introduce an exotic species is forbidden in most countries and before any expensive experiments are undertaken in large mesocosm, we needed to assess the potential of this approach. A computer model was established as a preliminary step toward this goal. To this end parameters of the biology and ecology of the control agent and the invasive alga were studied and included in the model. This model takes into account spatial effects as well as deterministic and stochastic biological events. The interest of using simulation in a study of biological control is discussed.

RÉSUMÉ

L'algue *Caulerpa taxifolia* s'est étendue rapidement en Méditerranée depuis 1984. Son caractère invasif et dominant en font une peste marine qui réduit la biodiversité des biocénoses où elle s'installe. Depuis 1994, il est envisagé d'utiliser un mollusque ascoglosse tropical, *Elysia subornata*, comme agent de lutte biologique. Afin de palier l'interdiction d'introduire des espèces exotiques en Méditerranée et afin de tester les potentialités de cette approche, nous avons élaboré un modèle préliminaire de simulation de lutte biologique. A partir des paramètres biologiques de l'agent de contrôle et de l'agent envahissant, un modèle informatique de type simulation stochastique à événements discrets a été développé. Ce modèle prend en compte aussi bien des événements déterministes que stochastiques de la biologie d'*E. subornata* ainsi que les contraintes spatiales du milieu. L'intérêt d'utiliser la modélisation dans cette problématique de lutte biologique est discuté.

INTRODUCTION

Since 1994, various chemical (ESCOUBET & BRUN, 1994; JAFFRENOU & ODONNE, 1996; GAVACH *et al.*, 1998) and physical (RIERA *et al.*, 1994; AVON *et al.*, 1996; COTTALORDA *et al.*, 1996; ROBERT & GRAVEZ, 1998) attempts have been made to control *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. Unfortunately all these techniques are only efficient on small flat surfaces. According to LAFFERTY & KURIS (1996), when classical approaches of control are unsatisfactory, the use of biological control can be considered. Thus, four species of mollusks (Ascoglossa) are known to be specific grazers of *C. taxifolia*: *Oxynoe azuropunctata* (Jensen, 1980), *Elysia subornata* (Verrill, 1901), *Oxynoe olivacea* (Rafinesque, 1819) and *Lobiger serradifalci* (Calcara, 1870) (MEINESZ *et al.*, 1996; THIBAUT *et al.*, 1998; THIBAUT & MEINESZ, 2000; THIBAUT *et al.*, 2001). Among these four species, the tropical *E. subornata* seems to be the best biological control agent: indeed this species has a direct benthic development (CLARK *et al.*, 1979), allowing rapid establishment of locally dense populations, and it has the highest feeding rate on *C. taxifolia* (THIBAUT *et al.*, 1998). The study of the biology and ecology of *E. subornata* shows the strong dependence of this species on the temperature of Mediterranean seawater. *E. subornata* stops reproducing below 21 °C and dies below 15 °C (THIBAUT *et al.*, 2001) and its feeding is also temperature-dependent (MEINESZ *et al.*, 1996). Because the introduction of an exotic species is forbidden in most countries affected by *C. taxifolia* and following the ICES guideline on the basic principles of biocontrol (ICES, 1997), all the potential of the control agent and of the invasive pest should be considered. Therefore, a preliminary computer model of *Elysia subornata* and *Caulerpa taxifolia* was developed as a first step toward this aim.

MATERIAL AND METHODS

The choice of the model is directly linked to the aim of the study, which is to estimate the impact of a predator population on a prey population during one year. As in most freshwater or marine biocontrol models, a simple predator-prey study could have been done (COURCHAMP & SUGIHARA, 1999; GODFRAY & WAAGE, 1991). But, these models only concern population or biomass variation without taking into account the spatial distribution of the species involved. *Caulerpa taxifolia* development is strongly influenced by its spatial distribution *i.e.* mainly depth and substrate. Furthermore, according to the optimal foraging theory (HUGUES, 1980), the feeding of predators is influenced by the spatial distribution of its prey. Thus, *Elysia subornata* should leave patches of *C. taxifolia* before complete depletion (THIBAUT *et al.*, 2001) in order to find new patches to graze on.

Modelling elements

The biological parameters were included in this model either as deterministic or stochastic parameters (for a complete description of the model see COQUILLARD *et al.*, 2000):

- (i) Deterministic: comparative growth of *Caulerpa taxifolia* and *Elysia subornata*, reproduction and feeding of *E. subornata*;

- (ii) Stochastic: foraging of *E. subornata* (the migration of the individuals to their food sources).

The environmental and spatial conditions were the water temperature and the maps of distribution of *C. taxifolia* and *E. subornata*. The time step, discrete and constant, describes the main events of *E. subornata*'s lifecycle in 20 days, the duration of the study is 1 year, the abstraction level (= studied scale) is the population and the detail level is *E. subornata* individuals. Finally the model is implemented on maps computed as a 100 x 100 grid, where each cell is 1 m².

The map of *Caulerpa taxifolia* integrated in the model comes from the *in situ* situation in Le Brusac lagoon (Var, France) in 1997, *i.e.* 4530 m² densely covered (MEINSEZ *et al.*, 1998).

The model used is a stochastic multi-modelling discrete event simulation (COQUILLARD *et al.*, 2000).

RESULTS AND DISCUSSION

The choice of the colony of *Caulerpa taxifolia* growing in Le Brusac is interesting for this kind of study because it is located in a shallow lagoon with the same substrate (muddy bottoms and *Cymodocea nodosa* Ucria Acherson beds). Thus for a preliminary study, the influence of depth and substrate on the biology of *Elysia subornata* were eliminated.

The results of simulations demonstrate that the greatest impact on *Caulerpa taxifolia* are obtained using either adults or mixing adult and juveniles slugs. In any case better results are obtained by a scattering of slugs on isolated spots rather than in clusters. For further details on these results and on the biology of *E. subornata* see COQUILLARD *et al.* (2000) and THIBAUT *et al.* (2001).

In fact, the validation of the model is not feasible, even partially. While the spatial distribution of the control agent seems to strongly influence its feeding and reproduction, validation of the population dynamics are only possible *in situ* or in large mesocosm. Neither the release of the slugs nor the building of a large and expensive mesocosm, with a closed water circuit to avoid any accidental release of the biocontrol agent, are under consideration. But it is absolutely necessary to assess the potential of *Elysia subornata* in order to consider its release. Thus, it could be necessary to reconsider the process of validation in the study of marine biological control involving species strongly influenced by their spatial distribution. Without field validation, such models should be only used to provide new ways of research, ways that classical ecological studies cannot provide. For example, with our model, the time of individuals' release, the age class of the slugs and the pattern of distribution of the predator on a *Caulerpa* field were the main factors which influence the efficiency of the biocontrol agent. Finally, this preliminary model shows the need to describe in detail the behaviour

of *E. subornata* during its foraging activity with respect to different patterns of food distribution.

Acknowledgements: This study was funded by the European Life Program (DG XI). We would like to thank all the persons who contributed to the study of *Elysia subornata* (Laurent BURTAIRE, Valérie VIDAL, Luisa MANJIALAGO, Santina IERARDI,) and those who helped to solve technical problems in modelling (Dr. David HILL).

REFERENCES

AVON M., DIMEET J., HENOCQUE Y., SAUZADE D., SKIERNIEWSKI E., 1996. Eradication de l'algue *Caulerpa taxifolia*. Démonstration des performances des techniques de destruction *in situ*. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 135-137.

CLARK K.B., BUSACCA M., STIRTS H., 1979. Nutritional aspects of development of the ascoglossan, *Elysia cauze*. *Reproductive ecology of marine invertebrates*. Starcys edit., Univ. South Carolina Publ., USA : 11-24.

COQUILLARD P., THIBAUT T., HILL D.R.C., GUEGNOT J., MAZEL C., COQUILLARD Y., 2000. Simulation of the mollusc Ascoglossa *Elysia subornata* population dynamics: application to the potential biocontrol of *Caulerpa taxifolia* growth in the Mediterranean Sea. *Ecol. Mod.* 135 : 1-16.

COTTALORDA J.M., ROBERT P., CHARBONNEL E., DIMEET J., MENAGER V., TILLMAN M., VAUGELAS J. de, VOLTO E., 1996.- Eradication de la colonie de *Caulerpa taxifolia* découverte en 1994 dans les eaux du Parc National de Port-Cros (Var, France). *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 149-156.

COURCHAMP F., SUGIHARA G., 1999. Modelling the biological control of an alien predator to protect island species from extinction. *Ecol. App.* 9 : 112-123.

ESCOUBET P., BRUN V., 1994. Utilisation de la carboglace et des ultrasons comme source d'éradication de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 333-337.

GAVACH C., BONNAL L., UCHIMURA M., SANDEAUX R., SANDEAUX J., SOUARD R., LAMAZE B., LASSERE J.C., FOUGAIROLLE C., COMBES J.F., GRAVEZ V., 1998. Destruction de *Caulerpa taxifolia* par la technique de la couverture à ions cuivriques. Développement pré-industriel et premier essais. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 101-104.

GODFRAY H.C.J., WAAGE J.K., 1991. Predictive modelling in biological control: the mango mealy bug (*Rastrococcus invadens*) and its parasitoids. *J. App. Ecol.* 28 : 434-453.

HUGUES R.H., 1980. Optimal Foraging Theory in the marine context. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 18 : 423-481.

JAFFRENOU B., ODONNE L., 1996. Procédé de maîtrise et de réduction du développement de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 145-148.

ICES, 1997. Study group on marine biocontrol of invasive species. La tremblade 1997. Copenhagen : draft report.

LAFFERTY K.D., KURIS A., 1996. Biocontrol of marine pests. *Ecology* 77 (7) : 1989-2000.

MEINESZ A., MELNICK J., BLACHIER J., CHARRIER S., 1996. Etude préliminaire, en aquarium, de deux ascoglosses tropicaux consommant *Caulerpa taxifolia* : une voie de recherche pour la lutte biologique. *Second int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Ribera M.A., Ballesteros E., Boudouresque C.F., Gomez A., Gravez V. eds., Univ. Barcelona Publ., Spain : 157-161.

RIERA F., POU S., GRAU A.M., DELGADO O., WEITZMANN B., BALLESTEROS E., 1994. Eradication of a population of the tropical green alga *Caulerpa taxifolia* in Cala d'Or (Mallorca, Western Mediterranean) : methods and results. *First int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Gravez V. eds., GIS Posidonie Publ., France : 327-331.

ROBERT P, GRAVEZ V., 1998. Contrôle de l'algue *Caulerpa taxifolia* dans le Parc National de Port-Cros (Var, France). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 79-87.

THIBAUT T., MEINESZ A., BURTAIRE L., CHARRIER S., MANGIALAJO L., IERARDI S., VIDAL V., 1998. Biological control of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean Sea : Use of tropical and mediterranean ascoglossans. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 105-111.

THIBAUT T., MEINESZ A., 2000. Are the Mediterranean ascoglossan molluscs *Oxynoe olivacea* and *Lobiger serradifalci* suitable agents for a biological control against the invading tropical alga *Caulerpa taxifolia* ? *C. R. Acad. Sci., Life Science* 323 : 477-488.

THIBAUT T., MEINESZ A., AMADE P., CHARRIER S., DE ANGELIS K., IERARDI S., MANGIALAJO L., MELNICK J., VIDAL V., 2001. *Elysia subornata* (Mollusca) a potential control agent of the alga *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) in the Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Ass. UK*. 81 : 37151-37158.

STEPS UNDERTAKEN BY THE REGION OF LIGURIA (ITALY) FOR THE STUDY OF THE ALLOCHTHONOUS *CAULERPA* SPECIES

G. RELINI¹, G. MANARATTI², S. COPPO²

¹ *Laboratori di Biologia Marina ed Ecologia Animale - DIP.TE.RIS - Università di Genova - via Balbi, 5 - 16126 Genova, Italia*

² *Struttura Ambiente Marino e Costiero - Regione Liguria, Genova, Italia*

ABSTRACT

Actions and studies carried out from October 1997 to October 1998 by the Region of Liguria in collaboration with the University of Genoa regarding the spread of the two allochthonous algae *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh and *C. racemosa* (Forsskål) J. Agardh in the Ligurian Sea are described. All twenty harbours of the western riviera were monitored. In twelve of them *C. taxifolia* was recorded, and in five of them its extension was mapped. The presence of *C. taxifolia* was also mapped in a 26 km² area off Imperia. Research on fishes and benthos was carried out. Attempts were made to eradicate *C. taxifolia* over a surface area of 2 m² at Chiavari. *C. racemosa* distribution was mapped at Quinto (Genova). A great effort was made to promote awareness and to engage the cooperation of maritime authorities, fishermen, scuba-divers and other users of the sea.

RÉSUMÉ

Les activités et les études menées d'octobre 1997 à octobre 1998 par la Région de Ligurie, en collaboration avec l'Université de Gênes, sur l'expansion de deux algues allochtones *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh et *C. racemosa* (Forsskål) J. Agardh en Mer Ligure sont décrites ici. Les 20 ports de la côte ouest ont été étudiés. Dans douze d'entre eux *C. taxifolia* a été trouvée, et dans cinq d'entre eux son expansion a été cartographiée. La présence de *C. taxifolia* a été cartographiée sur 26 km² dans la région d'Impéria. Des recherches sur les poissons et le benthos ont été menées. L'éradication de 2 m² de *C. taxifolia* a été entreprise à Chiavari. La distribution de *C. racemosa* a été cartographiée à Quinto (Gênes). Un gros effort a été mené pour la sensibilisation et pour engager une coopération des affaires maritimes, des pêcheurs, des plongeurs et des autres utilisateurs de la mer.

INTRODUCTION

Liguria is the Region where *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh was recorded for the first time in Italian waters (RELINI & TORCHIA, 1992). Starting from the S. Lazzaro Basin (between the two ports of Imperia), *C. taxifolia* has been spreading mainly eastwards while *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh, recorded for the first time at Genova Quinto (BUSSOTTI *et al.*, 1996), seems to be spreading towards the west. Because the surface area covered by these two algae is increasing there is growing concern about possible negative effects on biodiversity and also on small-scale fisheries. Consequently the Regione Liguria, Assessorato all'Ambiente, decided to

undertake a study of *Caulerpa* allochthonous species calling on the scientific support of Genova University.

The aims of the cooperation between the Region of Liguria (Struttura Ambiente Marino e Costiero) and the University of Genova (Laboratori Biologia Marina ed Ecologia Animale, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse) are the following :

- A. to increase our knowledge of the present distribution of the two species *C. taxifolia* and *C. racemosa* along the Ligurian coast ;
- B. to update our knowledge of the spread of the two species, also by mapping the colonized areas ;
- C. to monitor interactions with sensitive (vulnerable) bioceonoses like *Posidonia oceanica* meadows, or in protected areas like marine parks ;
- D. to describe any changes in the ecosystem, also in terms of biodiversity ;
- E. to assess any fish fauna changes and impact on fishing activity ;
- F. to test systems and methods for the prevention of the spread of the algae and their settlement in areas designated as marine parks ;
- G. to help public authorities to diffuse scientifically correct information, to increase the awareness and cooperation of the mass-media and of sea-users in the coastal area, such as fishermen, scuba-divers and yachtsmen.

In this short report of the action carried out we focus on points A, B, F and G ; for other items and discussion refer to our papers listed in bibliography.

MATERIAL AND METHODS

During the first year (one-year research contract from October 1997 to October 1998), the following eight main actions were performed :

1. All the harbours from Arenzano to the French border (fig. 1) were checked for the presence of *Caulerpa*, with particular attention paid to the areas where fishing boats are moored or trammel nets are cleaned, by means of scuba divers and video camera observations and recordings.
2. Five harbours which have been colonized extensively by *C. taxifolia* (Imperia Porto Maurizio, Imperia Oneglia, the old harbour of San Remo, Alassio and Varazze) were mapped by scuba divers; four categories of coverage (< 25 % ; 26-50 % ; 51-75 % ; > 75 %) by *Caulerpa taxifolia* were used.
3. Mapping of the main bioceonoses and *C. taxifolia* distribution in the coastal zone off Imperia, from Borgo Prino to Capo Berta down to 50 m depth. This area of about 25.8 km² was mapped by means of video-recordings taken along 27 transects perpendicular and two parallel to the coast.
4. Two 1 m² quadrats for each site (one in the S. Lazzaro basin, the other off Alassio) were chosen to study the colonization and growth rate of *C. taxifolia*. The quadrats were periodically photographed by scuba divers. Some borders of the colonized area

were marked by lines and pegs and the extension or regression of the algae was recorded.

5. For the study of benthos associated with *C. taxifolia* four stations were selected (RELINI *et al.*, 1998 a,b).
6. To assess fish fauna and trammel net fishery, four sites at Imperia were identified (RELINI *et al.*, 1999, 2000).
7. The Genova Quinto area, where *Caulerpa racemosa* was recorded for the first time in the Ligurian Sea (BUSSOTTI *et al.*, 1996), was monitored as well as other zones where the alga was thought to be present.

Substantial efforts were made to increase public and media knowledge and awareness of the problems raised by the spread of the two allochthonous algae, focused particularly on those who regularly use the sea.

RESULTS

The main results obtained for the eight above-mentioned subjects are as follows :

- At the end of September 1998, the presence of *Caulerpa taxifolia* was recorded (fig. 1) in twelve of the twenty visited harbours (Varazze, Alassio, Andora, San Bartolomeo al Mare, Diano Marina, Imperia San Lazzaro, Imperia Porto Maurizio, Imperia Oneglia, S. Stefano al Mare, San Remo Porto Sole, San Remo Porto Commerciale, Bordighera) ; at eight of them the alga was not found (Arenzano, Savona, Finale Ligure, Loano, Marina degli Aregai, Arma di Taggia, Ospedaletti, Marina di San Giuseppe di Ventimiglia, except at "Calandre" where the alga was present). It also seems to be absent in the small port of Gallinara. In some harbours not yet heavily colonized by *C. taxifolia* it was possible to demonstrate that first colonization occurs at sites where fishing boats are moored or trammel nets are cleaned (fig. 2) (RELINI *et al.*, 1998c).

- In the five harbours of Imperia Porto Maurizio, Imperia Oneglia, San Remo, Alassio and Varazze the various surface coverage rates of *C. taxifolia* were mapped (fig. 3, 4, 5 and 6). The bottom of Imperia Porto Maurizio harbour is completely colonized with a coverage rate of more than 75 % by *C. taxifolia*, so the map is not shown.

- The map of the principal biocoenoses and distribution of *C. taxifolia* with different densities of settlement is described (TORCHIA *et al.*, 2000, 2001).

- The results obtained by testing the colonization rate of *C. taxifolia* were contradictory because in some places there was an increase of the area covered by the alga, in others colonization retreated. In particular in shallow zones exposed to wave action large areas of *C. taxifolia* disappeared during winter. Attempts to eradicate *C. taxifolia* recorded on rocks near the port of Chiavari were made but without any long-lasting success. A surface area of about 2.2 m² of *C. taxifolia* was completely cleaned by three scuba-divers in January 1998 and some small fronds were eradicated in May 1998, but by September 1998 an area of 2.2 m² was once again covered by *C. taxifolia*. This means that repeated interventions are needed to decrease the colonization process

and that in the case of rocky substrata with rough surface and crevices, eradication is quite almost impossible by manual methods.

- At four stations used for benthos investigations a total of 122 taxa of mobile fauna and sessile organisms were identified, with more attention to animals than to epiphyte algae (RELINI *et al.*, 1998 a,b).

- At four stations in Imperia where trammel net and visual censuses were used 55 fish species were listed. The highest species richness was observed in *Caulerpa taxifolia* dense colonization: 34 species (RELINI *et al.*, 2000, 2001).

- *Caulerpa racemosa* was recorded for the first time at Genova Quinto (this was also the first record for the Ligurian coast). This zone was surveyed several times and the enlargement of the colonized area was documented. By September 1998 a surface area of about 300 m² (5.5-9.5 m bottom) had been colonized by *C. racemosa* with 50 % coverage. There were other small areas in protected shallow sites, one is some distance to the east (Nervi, Bagni Comunali Scogliera) (fig. 7). Many other sightings by various people have not been confirmed by our divers, possibly because they were only floating fragments.

A great effort was made to increase public and media knowledge and awareness and to insist on the importance of studying, supervising and, if possible, controlling the spread of the *Caulerpa* allochthonous species, given the level of environmental concern about changes in biodiversity and possible impact on fisheries. There was also a campaign to reassure people that there were no direct dangerous effects, no problems with poisons or toxic agents and they had nothing to fear when eating fish or swimming in zones colonized by the two algae.

A poster was prepared and distributed along the Ligurian coast to all maritime authorities (Harbour Office, Coast Guards), scuba diver clubs, fishermen's organization, yachtsmen etc. The poster shows the two *Caulerpa*, lists the main localities where the algae have been recorded, and asks people to phone to the Genova Harbour Office to report any new sightings. The Genoa Harbour Office Operational Unit keeps a register listing all new received sightings. On the basis of these records the university scuba divers checked the sites to confirm whether the allochthonous algae were present or not. The cooperation with the Harbour Office was very useful and forty records were checked during the summer and autumn of 1998. The Acquario di Genova has prepared a special tank in which *C. taxifolia* and *C. racemosa* are shown together with explanations and displays to visitors to the Acquario (more than one million a year). The region of Liguria has organized press-conferences and meetings, also in cooperation with the *Caulerpa* Life Project, to explain to NGO's, environmental organizations, scuba divers, fishermen etc. about problems and environmental concerns regarding the spread of the algae.

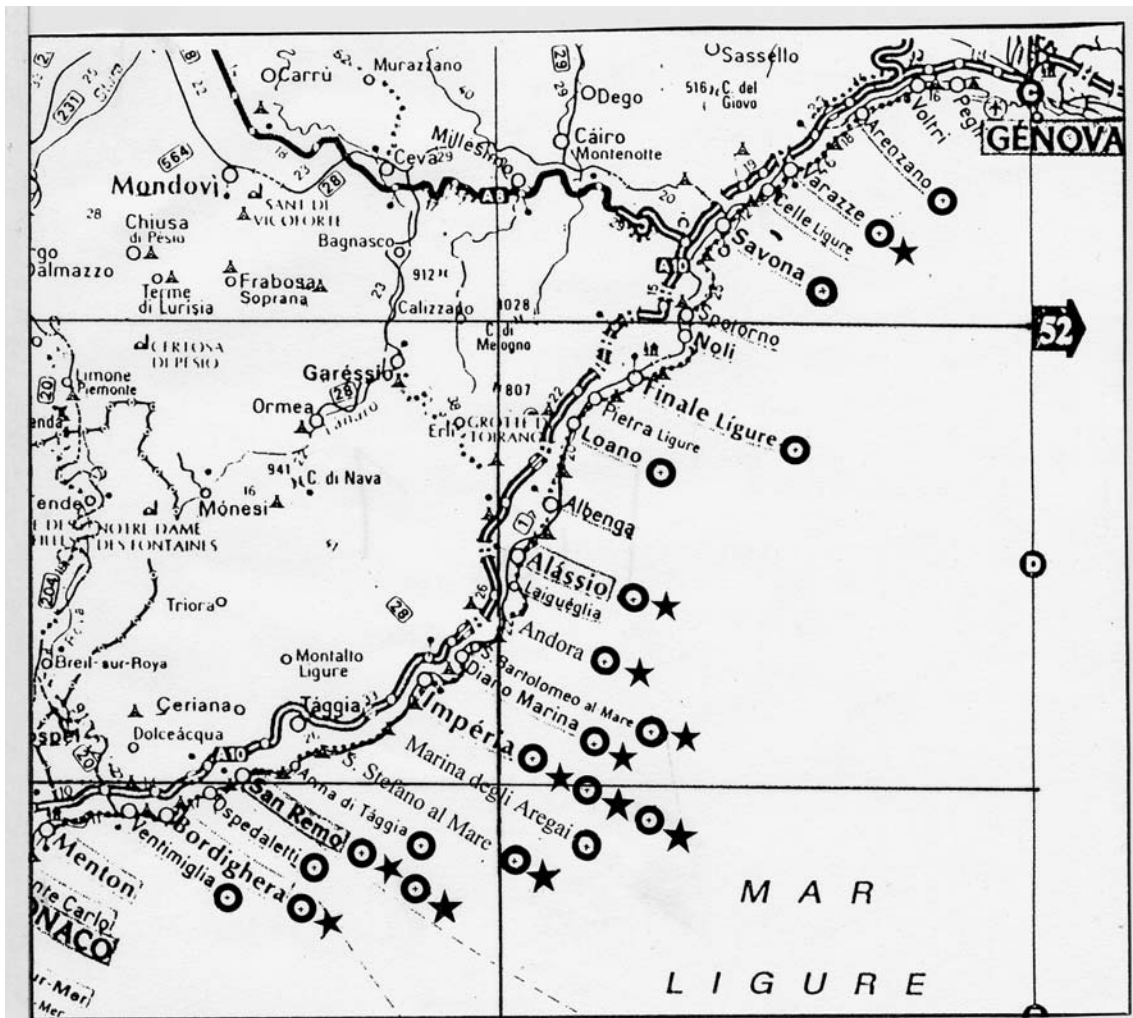


Figure 1. Western Ligurian harbours monitored during 1998 (●). ★ Presence of *Caulerpa taxifolia*.

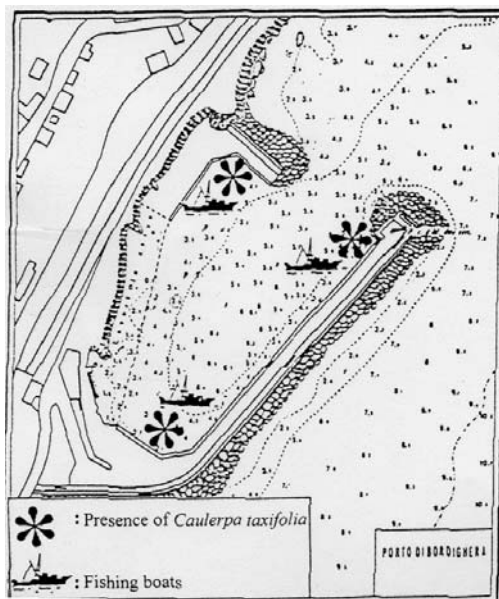


Figure 2. At the end of 1998, *Caulerpa taxifolia* was present in Bordighera harbour on only three sites, namely where fishing boats are moored.

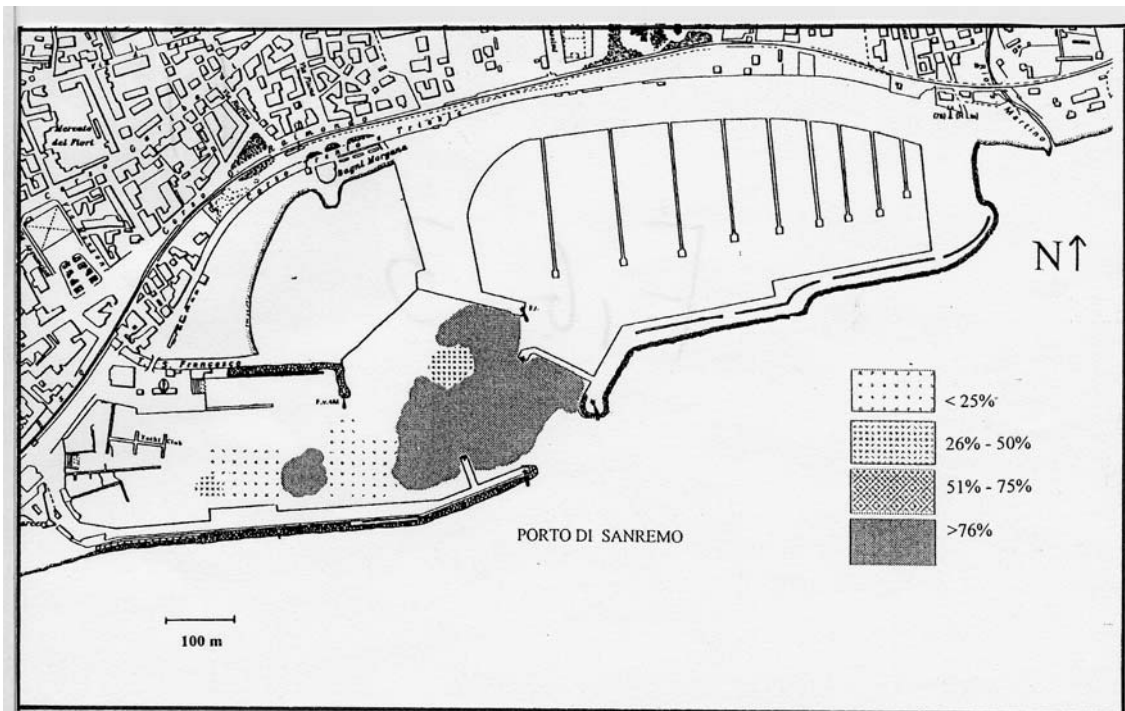


Figure 3. Distribution of *Caulerpa taxifolia* in San Remo harbour, where it is mixed with *Caulerpa prolifera*. Different coverage rates are shown.

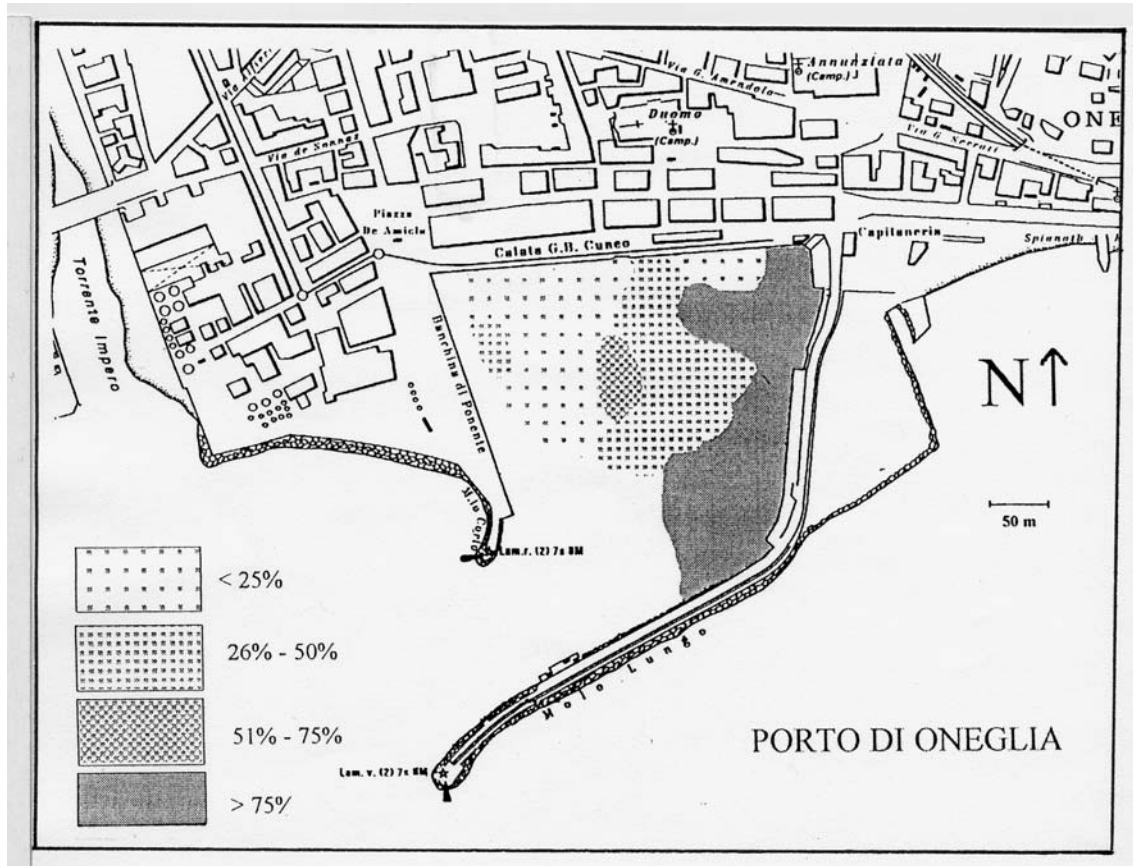


Figure 4. Different colonization rates of *Caulerpa taxifolia* in Imperia-Oneglia harbour.

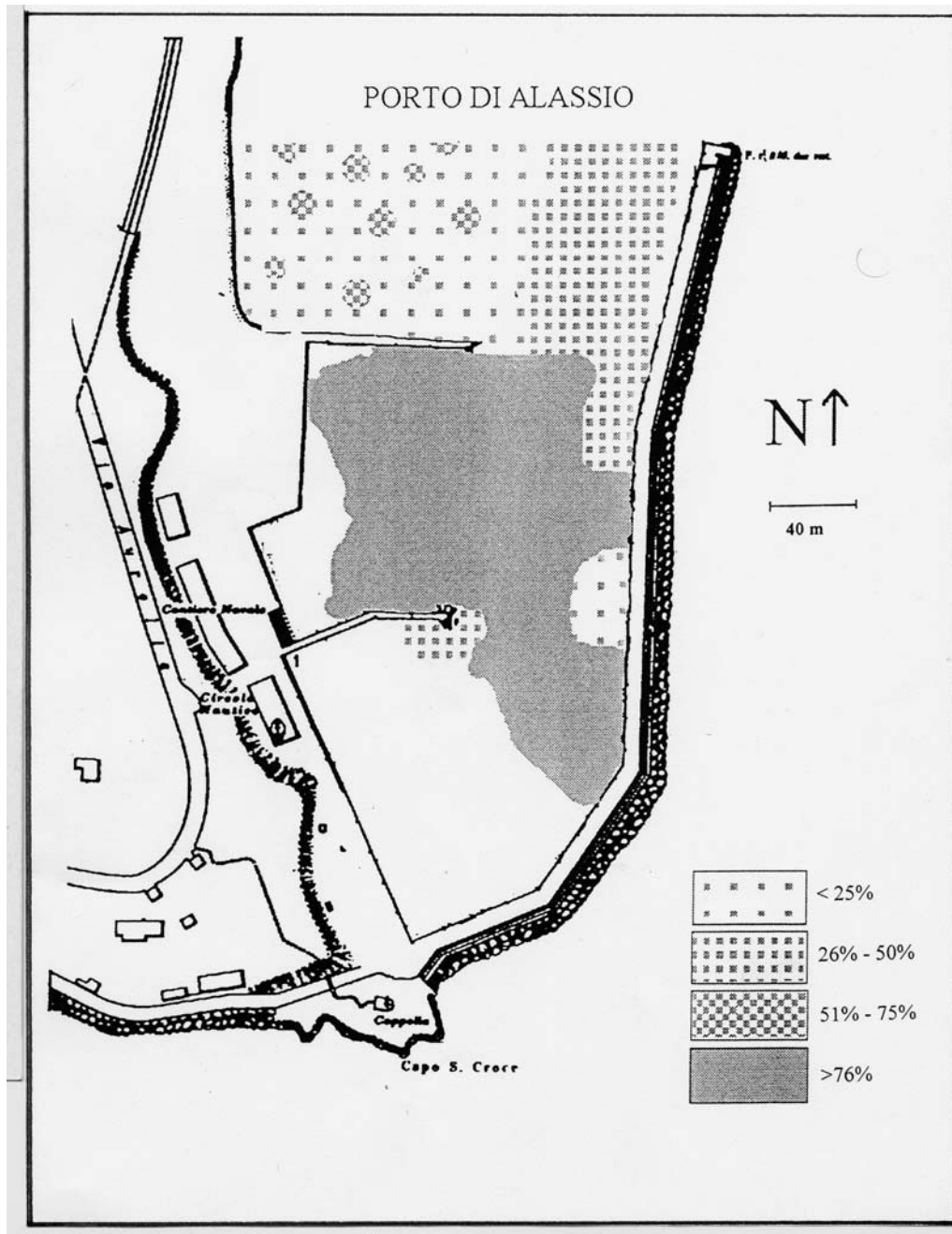


Figure 5. Colonization pattern of *Caulerpa taxifolia* in Alassio harbour.

CONCLUSIONS

Data collected during the one-year investigation show that the two allochthonous algae are spreading, though in some shallow unprotected sites *C. taxifolia* has disappeared due to strong wave action. It seems that this alga is much less resistant than *Cymodocea nodosa* to surf and currents. Fishing activity and fishing gear seem to be the main causes of the extraordinary spread of the algae and in particular of *C. taxifolia* along the coast and in the harbours of the Western Riviera (RELINI *et al.*, 1998c). In the meantime fishermen suffer the main damage caused by the presence of *C. taxifolia*

because the fish community has changed and now contains species of less economic value and because large quantities of algae fronds interfere with the performance of the gear and much time is required to clean the gear of the alga.

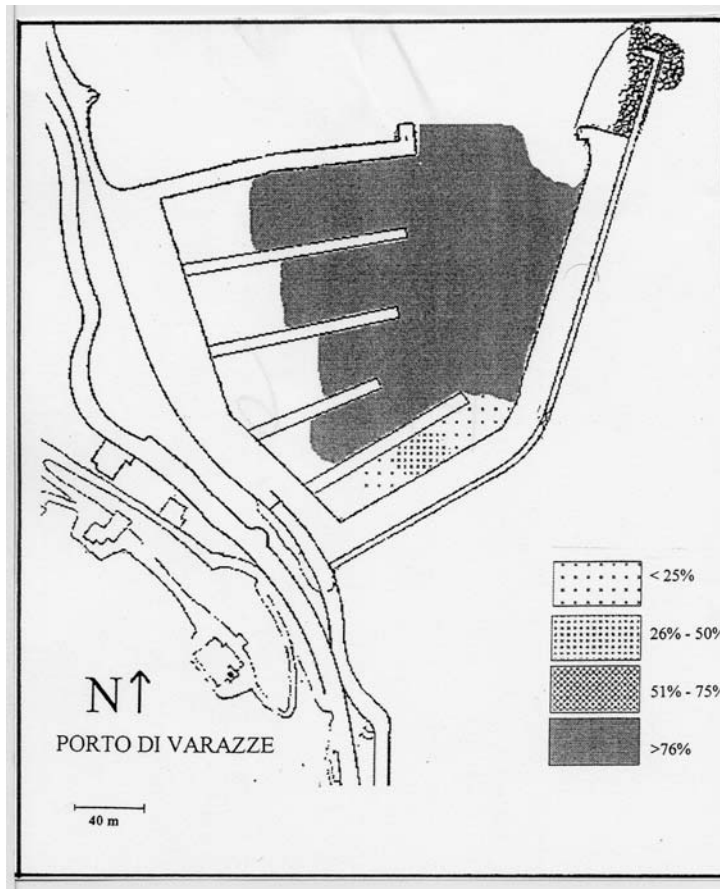


Figure 6. Colonization pattern of *Caulerpa taxifolia* in Varazze harbour.

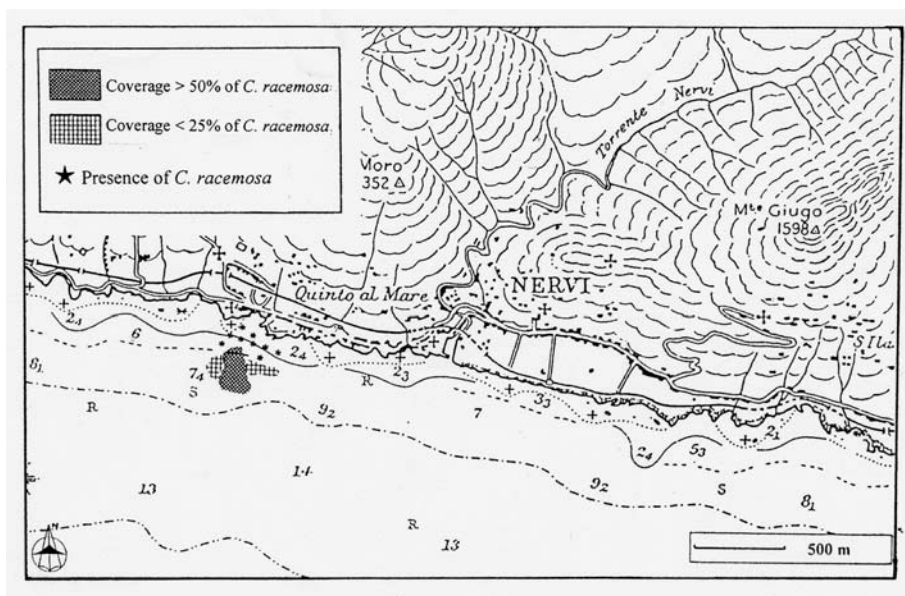


Figure 7. Distribution of *Caulerpa racemosa* at Quinto and Nervi.

In terms of species richness on soft bottoms the presence of *C. taxifolia* (for *C. racemosa* there are no data at present) can considerably increase the number of species of benthos and also of fishes, but the new community is different from the previous one and, in the case of fishes, composed of species of lower economic value.

A decrease in biodiversity is possible if the alga colonizes large surfaces and modifies several different bioconoses. The main concern in Liguria is the possible competition of *Caulerpa taxifolia* with *Posidonia oceanica* and its invasion in areas where there are existing marine parks or those planned for the near future, such as the area around Gallinara island. More effort is needed to understand how to prevent the settlement of *C. taxifolia* in the above-mentioned sensitive areas using natural means or anthropic systems.

Since this paper is a short report on the actions supported by the Regione Liguria there is no comparison with literature data. Further conclusions and discussion are reported in our papers listed in the bibliography. A second year of investigation was supported by the Regione Liguria during 1999 and the main previous results were confirmed.

Acknowledgements: This study was made possible by a one-year contract between the University of Genova and the Region of Liguria. The active cooperation and constant help of the Genova Coast Guards (Capitaneria di Porto di Genova e Direzione Marittima della Liguria) are acknowledged and very much appreciated. The group of scuba divers belonging to the Carabinieri helped in monitoring the spread of the algae and during the eradication test in Chiavari. The Acquario di Genova has contributed to the diffusion of knowledge about the two *Caulerpa* by preparing a tank containing *Caulerpa taxifolia* and *Caulerpa racemosa* which is open to the public.

REFERENCES

- BUSSOTTI S., COMTI M., GUIDETTI P., MARTINI F., MATRICARDI G., 1996. First record of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh along the coast of Genova (northwestern Mediterranean). *Doriana*, Genova 6 (294) : 1-5.
- RELINI G., MOLINARI A., RELINI M., TORCHIA G., 1998a. Confronto tra la fauna epifitica di *Caulerpa taxifolia* e *Cymodocea nodosa*. *Biol. Mar. Medit.* 5 (1) : 185-195.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998b. Fish and epiphytic fauna on *Caulerpa taxifolia* and *Cymodocea nodosa* at Imperia (Ligurian Sea). *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 185-195.
- RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 1998c. The role of fishing gears in spread of allochthonous species : the case of *Caulerpa taxifolia* in the Ligurian Sea. *Marine Benthos Dynamics : Environmental and Fisheries Impacts*. ICES Symposium, IMBC, Crete 1998. (In press : ICES Journal of Marine Science, 2000, 57).
- RELINI M., TORCHIA G., 1992. Prima segnalazione di *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in acque italiane. *Doriana, suppl. Annuali Museo Civico di Storia Naturale "G. Doria"*, Genova, 279 : 1-4.

RELINI G., RELINI M., TORCHIA G., 2000. Fish population changes due to the invasion of the allochthonous alga *Caulerpa taxifolia* in the Ligurian Sea (NW Mediterranean). ICES. CM 2000/V, 17 : 1-13.

RELINI M., TORCHIA G., RELINI G., 2001. Fishes of bottoms dominated by *Posidonia oceanica*, *Cymodocea nodosa* and *Caulerpa taxifolia*. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 246-255.

TORCHIA G., PALANDRI G., CIMA C., RELINI M., RELINI G., 2001. Map of *Caulerpa taxifolia* around Imperia (Italy). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 66-70.

TORCHIA G., PALANDRI G., CIMA C., RELINI M., RELINI G., 2000. La cartografia nello studio dell'invasione dell'alga *Caulerpa taxifolia*. *Biol. Mar. Medit.* 7 (1) : 517-527.

SPREAD OF CAULERPA RACEMOSA:

KINETICS AND CONSEQUENCES

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

IMPORTANCE DES CAULERPES DANS LES PEUPELEMENTS ALGAUX DE LA CÔTE LIBANAISE (MEDITERRANEE ORIENTALE)

Sami LAKKIS¹ & Vanda NOVEL-LAKKIS²

¹ Laboratoire et du Plancton et d'Ecologie Marine, Université Libanaise & CNRSL, Liban

² Centre National des Sciences Marines, Batroun, Liban, P.O.Box138, Jbeil-Byblos, Liban

ABSTRACT

The marine vegetation of the littoral zones around the Levantine Basin (Eastern Mediterranean), including the coast of Lebanon, belongs to the Mediterranean warm temperate flora with a certain subtropical affinity. Among the 241 taxa of macrophytes reported from the Lebanese coast, 60 species form the bulk of the Chlorophyta. Among those, the genus *Caulerpa* is represented by four species: *Caulerpa prolifera*, *C. scalpelliformis*, *C. racemosa* and *C. mexicana*; the first two being the most common. The tropical-origin species *Caulerpa taxifolia* which has accidentally invaded the western Mediterranean is, to date, completely absent from the Eastern basin. However there is a high risk that this species will in the future invade eastern Mediterranean regions, including the Levantine basin, where hydrological and hydro-climatological conditions are favorable for its development.

RÉSUMÉ

La végétation marine du littoral du bassin Levantin (Est de la Méditerranée), incluant la côte libanaise, est de type tempéré-chaud méditerranéen avec des affinités subtropicales. Parmi les 241 taxa de macrophytes répertoriés sur les côtes libanaises, 60 espèces forment l'ensemble des Chlorophyta. Parmi elles, le genre *Caulerpa* est représenté par 4 espèces : *Caulerpa prolifera*, *C. scalpelliformis*, *C. racemosa* et *C. mexicana* ; les deux premières étant les plus communes. L'espèce d'origine tropicale, *Caulerpa taxifolia*, qui a colonisé accidentellement le bassin Ouest de la Méditerranée, est, jusqu'à présent, absente dans le bassin Est. Cependant, il existe un risque important pour que cette espèce envahisse, dans le futur, les régions Est de la Méditerranée et notamment le bassin Levantin où les conditions hydrologiques et hydro-climatiques sont favorables au développement de cette espèce.

INTRODUCTION

Si la flore marine en Méditerranée occidentale est bien connue (FELDMANN, 1958 ; BOUDOURESQUE & FRESI, 1976), par contre les algues macrophytes du bassin oriental, notamment la mer du Levant, sont peu étudiées (ALEEM, 1950, 1993 ; RAYSS, 1941). La végétation des côtes levantines serait de type tempéré-chaud, la communauté algale appartient biologiquement à la province atlanto-méditerranéen (GIACCONE, 1968). Toutefois la découverte de plusieurs dizaines d'espèces thermophiles d'origine indo-pacifique en Méditerranée orientale, qui forment des populations stables, laisse penser que la flore de cette région possède une certaine affinité tropicale (POR, 1978 ; VERLAQUE, 1994 ; LAKKIS, 1997). Les espèces circumtropicales rencontrées dans cette région, et qui n'ont pas encore atteint le bassin

occidental, pourraient remonter à la période de la Téthys, ou bien être des espèces immigrantes, introduites récemment en Méditerranée orientale, notamment par le canal de Suez (RIBERA & BOUDOURESQUE, 1995). Les connaissances sur les algues du littoral libanais sont peu fournies (BASSON *et al.*, 1976 ; LAKKIS, 1982), contrairement à celles des régions voisines et des mers adjacentes, notamment les côtes syriennes (MAYHOUB, 1976), palestiniennes (RAYSS, 1954, 1955 ; PAPENFUSS, 1968 ; LIPKIN, 1972, 1975 ; SAFRIEL & RITTE, 1986) et égyptiennes (ALEEM, 1948).

Dans une étude préliminaire sur la répartition des algues sur la côte libanaise, BASSON *et al.* (1976), ont mentionné la présence *Caulerpa racemosa* et *C. prolifera* en avril-mai. Dans une étude sur la biodiversité de la flore marine du Liban (LAKKIS *et al.*, 1996), nous avons trouvé et ajouté à la liste floristique formée de 235 espèces deux autres caulerpes : *C. scalpelliformis* et *C. mexicana*. Nous présentons ici la distribution des caulerpes sur la côte libanaise et leur importance au sein de la communauté algale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Faisant partie du Levant méditerranéen, le Liban est situé entre 33° et 35° N et 35°20'-36°30' E ; il est compris tout entier dans la zone du climat sud-est méditerranéen avec un climat tempéré chaud. La côte libanaise qui s'étend sur 220 km, entre la frontière sud de Nakoura et la frontière syrienne au nord, présente une direction SW-NE. La plaine côtière, très étroite, est limitée à l'est par une chaîne de montagnes, le Mont Liban, dont les sommets culminent à 3000 m et restent couverts de neige durant 4 à 5 mois. Ces montagnes sont coupées par des vallées profondes qui se dirigent toutes vers l'ouest et au fond desquelles coulent des cours d'eau plus ou moins permanents. La côte est formée par une série de caps rocheux alternants avec des petites baies ou des criques sableuses. La roche calcaire dolomitique a été formée durant le Cénomanién (Crétacé), d'autres roches littorales datent du Miocène. Des falaises plus ou moins abruptes existent tout le long de la côte, rares sont celles qui dépassent les 20 m de hauteur. Elles sont formées de calcaire tendre, n'offrant aucune résistance aux phénomènes d'érosion par les vagues, formant des plateformes de 75-100 m de largeur. Ces platiers rocheux qui montrent différentes formes d'érosions caractéristiques comme des petites crevasses et des dépressions creusées dans les roches les plus exposées, deviennent des bassins sous l'action mécanique et chimique de l'eau de mer (SANLAVILLE, 1977). Plusieurs espèces s'y installent notamment des polychètes, des mollusques tels que *Vermetus triqueter*, *V. gigas* et des algues calcaires formant un trottoir à vermetus typique de la côte levantine.

Sur son versant occidental, le Liban est parcouru par des torrents, d'environ 30 km de longueur, qui dévalent des crêtes vers la mer avec une forte pente. Quelques uns présentent le caractère des "oueds" gorgés d'eau durant la saison des pluies et de la fonte des neiges et desséchés le restant de l'année. D'autres rivières côtières sont permanentes car elles prennent naissance à des sources situées à la base de la montagne. Ces dernières sont au nombre de 20 y compris le fleuve de l'Oronte qui

coule dans la vallée intérieure de la Békaa, se dirigeant vers le nord de la Syrie pour se jeter dans la mer près d'Antioche. Les fleuves déversent annuellement dans la mer environ $2\,500 \cdot 10^6 \text{ m}^3$, sans compter l'Oronte dont le débit à lui seul s'élève à $2\,739 \cdot 10^6 \text{ m}^3$ par an (DE VAUMAS, 1954).

La côte est exposée directement aux vagues, sauf quelques baies plus ou moins abritées. La houle est généralement engendrée par les vents dominants du SW, très forts entre décembre et avril. La marée est de type semi-diurne et régulière d'amplitude très faible ($\pm 20 \text{ cm}$) comme partout sur les côtes levantines. Le courant général de surface est de secteur SW se dirigeant vers le nord parallèlement à la côte et à 2 milles de celle-ci. La force de ce courant en surface atteint 50 cm/sec en janvier-février et s'affaiblit en été pour tomber à 15 cm/sec (GOEDICKE, 1972). Des petits courants secondaires se détachent du courant principal vers la côte formant des mouvements cycloniques dans les baies. Six stations côtières couvrant des zones propres ainsi que des zones polluées ont été choisies sur des transects perpendiculaires à la côte entre Byrouth et Tripoli. Des échantillonnages saisonniers effectués entre avril 1996 et janvier 1997 ont permis d'effectuer une série d'échantillons dans le but d'une étude taxonomique et phytosociologique. Les stations d'échantillonnage sont réparties comme suit (fig.1) :

- Station 1, située dans la localité de Aramane, à 1 km au nord de Tripoli, près de la raffinerie de pétrole et du terminus de l'oléoduc Mossul-Tripoli, tous deux sont en activité actuellement ;
- Station 2, située sur une côte rocheuse à 400 m au nord de l'usine d'engrais chimique de Silaata ;
- Station 3, située sur un large platier rocheux en face du Centre de Recherches Marines de la petite ville de Batroun ;
- Station 4, située sur une côte rocheuse à 10 km au nord de la ville de Byblos dans une zone éloignée des sources de pollution ;
- Station 5, située près de l'usine thermo-électrique de Zouk Mikayel ;
- Station 6, située dans la banlieue sud de Khaldé, près de l'aéroport de Beyrouth à 200 m au sud d'un émissaire urbain d'égout non traité desservant la grande banlieue de Beyrouth.

Six points de prélèvements sont choisis sur chaque site en suivant la zonation en étage adoptée par MOLINIER (1960) et PÉRÈS (1967) : supralittoral, médiolittoral (horizons supérieur et inférieur) et l'infra-littoral (supérieur et inférieur). Les caractéristiques géomorphologiques, ainsi que les facteurs physico-chimiques et biotiques, sont notés à chaque point d'échantillonnage. Nous avons trouvé utile d'utiliser le terme "frange littorale" défini par BOUDOURESQUE & FRESI (1976) ; la zone à vermetes est une zone de transition entre le médio et l'infra-littoral. Des prélèvements saisonniers ont été effectués dans chaque sites, directement dans le supralittoral et médiolittoral, alors que pour l'infra-littoral nous avons procédé par plongée libre ou en scaphandre autonome.

Pour les prélèvements qualitatifs et quantitatifs nous avons utilisé un cadre métallique de $20 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$. Dans cette étude phytosociologique définissant les biocénoses, nous avons estimé les coefficients de recouvrement en % selon la méthode de

BOUDOURESQUE (1971a, 1971b). Au laboratoire, les échantillons prélevés par raclage de la totalité de la flore ont été conservés dans le formol à 5%. Les sels nutritifs : phosphates, nitrates nitrites et ammoniacque sont analysés par méthode colorimétrique selon STRICKLAND & PARSONS (1972).

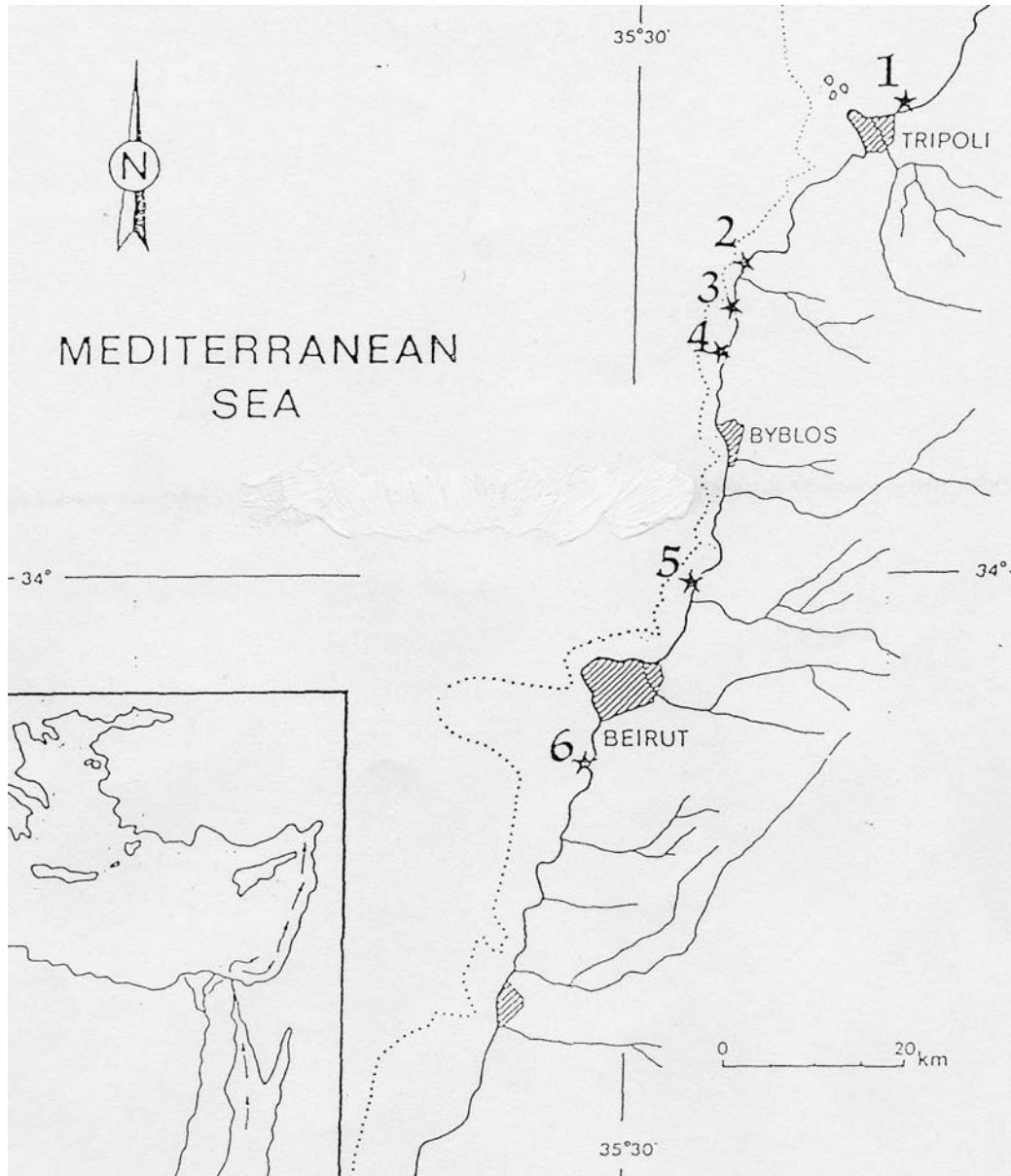


Figure1. Localisation des sites et des stations de prélèvements le long de la côte libanaise.

RÉSULTATS

Paramètres analytiques

Le cycle thermique de l'eau de mer est généralement formé par deux phases : une phase froide, entre décembre et avril, marquée par une homothermie verticale avec une température minimale en surface de 17 °C en février, et une phase chaude estivale allant de mai à novembre, caractérisée par la formation de la thermocline entre 35-

75 m accompagnée par une stratification des couches d'eau superficielle. La température monte à 30 °C pour août et septembre ; la moyenne annuelle générale durant les 25 dernières années varie faiblement autour de 23 °C ± 1.15 (LAKKIS, 1997). La salinité dans les eaux côtières est sujette à des variations saisonnières importantes selon les débits des rivières et les eaux des pluies et de circulation arrivant en mer. Les valeurs extrêmes se situent autour de 38.85 à la station 6 et 39.45 à la station 4. La pollution organique amenée en mer par les émissaires urbains et les cours d'eau chargés de toutes sortes de polluants, provoque des phénomènes d'eutrophisation des eaux estuariennes et côtières dues à la grande concentration en phosphates et nitrates (BASSON *et al.*, 1976 ; LAKKIS, 1998). L'eutrophisation se manifeste par un développement excessif d'algues vertes comme les ulves, les entéromorphes, les cladophores ainsi que des microalgues benthiques et planctoniques. Par contre, la pollution affecte le développement des Dictyotales et des Fucales au voisinage des côtes polluées, notamment *Padina pavonica* et *Cystoseira* spp. Ainsi à la station polluée 6, la richesse floristique est la plus faible (39 taxa) par rapport à la station de référence 4, la plus éloignée des sources de pollution, la plus riche en espèces (84 taxa).

Tableau 1. Paramètres physico-chimiques mesurés dans les 6 stations : température (T °C), salinité (S ‰), concentrations en oxygène (en ml.l⁻¹), en PO₄, NO₃ et NH₄ (en µg.l⁻¹) et caractéristiques des échantillons : poids frais (PF (g.m⁻²)) et nombre d'espèces (Nb Esp). Les données sont les moyennes annuelles.

Station Localité	1 Raffin.	2 Silaata	3 Batroun	4 Barbara	5 Zouk	6 Khalde
T °C	23.13	22.98	22.95	24.12	23.12	23.25
S ‰	39.25	39.25	39.28	39.45	38.85	39.10
O ₂ (ml.l ⁻¹)	6.45	6.15	7.10	7.45	5.75	4.68
PO ₄ (µg.l ⁻¹)	0.62	19.60	0.82	0.78	1.08	1.51
NO ₃ (µg.l ⁻¹)	1.90	0.72	0.18	0.11	0.80	2.30
NH ₄ (µg.l ⁻¹)	5.1	4.8	6.6	7.0	4.3	9.6
PF (g.m ⁻²)	1034	1048	1975	2850	850	650
Nb Esp	54	43	76	84	45	39

Peuplements algaux de la côte libanaise

La végétation marine de la côte libanaise est caractérisée par une pauvreté en biomasse contrastant avec une grande diversité taxonomique. La liste floristique établie comprend 242 taxa dont 25 Cyanophyceae, 58 Chlorophyceae, 29 Phaeophyceae, 127 Rhodophyceae et une espèce de Xanthophyceae. Les phanérogames sont représentées par trois espèces : *Halophila stipulacea*, *Cymodocea nodosa* et *Zostera noltii* (LAKKIS & NOVEL-LAKKIS, 2000). La grande homogénéité des peuplements dans toutes les stations fait que les résultats de nos observations sont presque similaires ; les différences qualitatives et quantitatives qui existent semblent être liées beaucoup moins aux conditions géomorphologiques des sites qu'aux facteurs physico-chimiques et écologiques locaux, notamment les facteurs de pollution.

Les espèces qui se développent dans le supralittoral sont soumises à des conditions écologiques irrégulières et dures telles que l'humectation irrégulière par l'eau de mer, le suintement d'eaux douces, l'anfractuosité de la roche. La communauté vivant dans cet étage est caractérisée par la dominance des cyanophycées épilithes et des diatomées

benthiques ainsi que par la présence de *Littorina neritoides* (*Melaraphe*) et de *Ligia italica*.

Le médiolittoral supérieur est caractérisé par deux associations algales principales : *Porphyra leucostica-Enteromorpha* et *Nemalion-Polysiphonia*, chacune avec des espèces caractéristiques et des espèces accompagnatrices. L'horizon inférieur du médiolittoral est caractérisé par un assemblage d'espèces photophiles des platiers rocheux à vermetes et des associations à *Laurencia papillosa* qui supportent moins l'exondation.

L'étage infralittoral est caractérisé par une flore assez riche et diversifiée grâce aux conditions écologiques plus stables. On y trouve plusieurs formes tropicales et subtropicales ainsi que des espèces lessepsiennes d'origine Indo-Pacifique. L'horizon supérieur de l'infralittoral est caractérisé par les associations de *Jania-Bryopsis-Liagora*, et le peuplement photophile-calme à *Jania-Padina-Dasycladus*. Dans l'horizon inférieur, on distingue les peuplements sciaphiles des substrats rocheux et les peuplements à fonds meubles caractéristiques des phanérogames marines et des peuplements à Caulerpes.

Peuplements à Caulerpes de la côte libanaise

Les fonds meubles en Méditerranée sont généralement favorables au développement des algues. Ils sont essentiellement peuplés par des Phanérogames marines (MOLINIER, 1960). Ces fonds montrent, par contre, dans les régions tropicales et subtropicales, une flore algale riche et variée, constituée essentiellement de Caulerpales. Sur les côtes levantines, la végétation des substrats meubles présente un caractère intermédiaire entre celles de la Méditerranée occidentale et de la mer Rouge. Les Phanérogames marines rencontrées sur la côte libanaise comprennent les trois espèces : *Zostera noltii*, *Cymodocea nodosa* et *Halophila stipulacea*. L'espèce *Posidonia oceanica* (L.) Delile n'a jamais été observée sur nos côtes ; par contre, MAYHOUB (comm. pers.) affirme l'avoir trouvée sur les côtes syriennes, au nord-ouest de l'île de Rouad, sous forme de prairie en voie de disparition. D'après cet auteur, cette Phanérogame qui régresse dans ce secteur à cause de l'installation des ports et des remblayages, est remplacée progressivement par les Caulerpes. Celles-ci se développent sur des fonds meubles sableux et sablo-vaseux riches en matière organique. Ceci correspond plus ou moins au même biotope que celui de *Cymodocea nodosa* et *Zostera noltii*. Toutefois, elles sont moins tolérantes à l'égard de l'abaissement de la salinité et font défaut à l'embouchure des rivières contrairement aux Phanérogames.

Le genre *Caulerpa* Lamouroux comprend une centaine d'espèces répandues dans les mers tempérées chaudes et les mers tropicales. En Méditerranée, deux espèces sont autochtones de façon certaine : *Caulerpa prolifera* et *C. olivieri* ; trois autres espèces d'origine indo-pacifique sont introduites, probablement par le canal de Suez : *C. scalpelliformis*, *C. mexicana* et *C. racemosa* (RAYSS & EDELSTEIN, 1960). Quant à *C. taxifolia*, qui n'est pas une espèce méditerranéenne, elle n'y avait jamais été observée avant 1984, date de son apparition accidentelle dans le bassin occidental (MEINESZ & HESSE, 1991).

Les caulerpes des côtes du Liban sont représentées par les quatre espèces : *Caulerpa scalpelliformis*, *C. prolifera*, *C. racemosa* et *C. mexicana* ; les deux premières étant les plus communes. Ces algues prolifèrent sur des fonds meubles avec une grande amplitude bathymétrique allant de -10 m à -40 m, ne formant jamais de prairies denses. Ces fonds sont souvent formés de sables plus ou moins envasés, riches en matières organiques, loin des embouchures des cours d'eau et des rivières car elles sont sténohalines. Les Caulerpes qui sont pour la plupart des espèces thermophiles, montrant une affinité subtropicale, sont souvent mêlées aux Phanérogames formées essentiellement de *Cymodocea nodosa* et *Zostera noltii*. *Caulerpa scalpelliformis* et *C. prolifera* sont peu exigeantes quant à la nature du substrat. On les rencontre sur des fonds rocheux couverts de sédiments ainsi que sur fonds coralligènes. Si *C. prolifera* préfère les eaux abritées et calmes des baies et des ports, par contre *C. scalpelliformis* est assez tolérante vis à vis de l'agitation de l'eau. Les peuplements de *C. scalpelliformis* sont assez homogènes ; les variations spatiales qui existent sont dues soit à une dominance de Rhodophycées telles que *Halymenia*, *Peyssonnelia*, des algues calcaires, soit à la formation d'un peuplement mixte de *Caulerpa-Cymodocea-Zostera*. Les variations saisonnières sont plus prononcées chez *C. racemosa* et *C. mexicana* qui perdent les frondes en hiver présentant une période de repos pendant laquelle les plantes sont réduites à leurs stolons enfouis dans la vase. *C. scalpelliformis* et *C. prolifera* sont plutôt des espèces pérennes, moins sensibles aux variations saisonnières, bien que le maximum de développement soit situé entre mai et octobre. On ne peut pas parler d'un peuplement à *C. scalpelliformis* comme unité phytosociologique indépendante ; ce serait un peuplement thermophile mixte de *Caulerpa-Cymodocea-Zostera* caractérisant les biotopes des substrats meubles. Il est aussi intéressant de noter que des "fonds spongifères" caractéristiques des côtes levantines sont colonisés par des peuplements riches en Caulerpes et en algues calcaires. Les espèces caractéristiques de ces fonds sont les éponges commerciales *Epispongia* et *Euspongia* qui se trouvent à 25-35 m de profondeur, sur des fonds rocheux et des graviers. Parmi les espèces accompagnatrices signalons : *Halimeda tuna*, *Udotea (Flabellia) petiolata*, *Peyssonnelia squamaria*, *P. inamoena*, *P. rubra*, *Halymenia floresia*, *Spyridia filamentosa*, *Taenioma macrourum*, *Tenarea undulosa*, *Vidalia (Osmundaria) volubilis*, *Wurdemannia miniata* et plusieurs autres espèces indéterminées.

Caulerpa scalpelliformis

Caulerpa scalpelliformis (R. Brown ex Turner) C. Ag a été signalée pour la première fois en Méditerranée à Beyrouth, à 30 m de profondeur par HAMEL (1930) et plus tard sur les côtes de Palestine par CARMIN (1934) et RAYSS (1941). Cette caulerpe est très répandue dans toutes les mers chaudes : mer Rouge, Océan Indo-Pacifique, Atlantique tropical. Elle est caractérisée par une fronde pennée présentant une symétrie bilatérale. La plus abondante du genre sur les côtes du Liban, elle constitue un peuplement étalé entre -5 et -40 m aussi bien sur des fonds rocheux que sur des fonds meubles. Cette espèce d'algue pérenne est présente tout le long de l'année, avec cependant une abondance plus importante au printemps et en été. Deux variétés géographiques ont été identifiées par MAYHOUB (1976) sur les côtes syriennes : *C. scalpelliformis* var. *denticulata* Weber Van Bosse et *C. scalpelliformis* var. *typica* Weber Van Bosse ; la distinction entre ces deux variétés n'est pas évidente.

L'amplitude bathymétrique du peuplement s'étend entre -1 et -40 m. *Caulerpa scalpelliformis* est peu exigeante pour la nature du substrat. Elle colonise aussi bien les fonds vaseux que ceux de sables grossiers. Ses puissants stolons peuvent se fixer sur les fonds coralligènes parmi les encroûtements d'algues calcaires. L'espèce est assez tolérante vis-à-vis de l'agitation de l'eau, contrairement aux *C. prolifera* et *C. mexicana* qui préfèrent les baies et les endroits protégés.

Le peuplement à *Caulerpa scalpelliformis* est caractérisé par les espèces suivantes : *Caulerpa mexicana*, *Microcoleus chthonoplastes*, *Cymodocea-Zostera* et une trentaine d'espèces compagnes dont : *Caulerpa racemosa*, *C. prolifera*, *Sphacelaria cirrosa*, *Dictyota dichotoma*, *Taonia atomaria*, *Flabellia petiolata*, *Codium vermilara*, *Bryopsis pennata*, *Valonia utricularis*.

Le peuplement de *C. scalpelliformis* n'a pas encore été décrit en Méditerranée comme unité phytosociologique distincte du fait de sa localisation en en Méditerranée sud-orientale où ces études sont très rares. D'après MAYHOUB (1976), il s'agit d'un peuplement thermophile caractérisant les biotopes photophiles des substrats meubles voisin du peuplement de *Cymodocea-Zostera*, duquel il s'en distingue par une exigence d'une température plus élevée et une tolérance plus grande à l'égard du substrat et beaucoup moins grande vis-à-vis de la dessalinisation.

Caulerpa mexicana

Caulerpa mexicana Sonder ex Kütz. (synonyme de *Caulerpa crassifolia* (Ag.) J. Ag. et *C. pinnata* Weber Van Bosse), possède une symétrie bilatérale comme l'espèce précédente, mais possède des frondes plus profondément découpées et des pinnules plus ou moins opposées. Les stolons sont plus fins que ceux de *C. scalpelliformis*. Elle est moins répandue et plus rare que *C. scalpelliformis*. On la rencontre souvent mêlée à celle-ci, mais elle semble préférer des eaux calmes et abritées contrairement à *C. scalpelliformis*. En hiver, les frondes disparaissent et la plante est réduite à ses stolons enfouis dans le sable. *C. mexicana* a été signalée la première fois en Méditerranée orientale sur les côtes de Palestine et à Beyrouth par RAYSS (1941, 1955). Cette algue circumtropicale est présente dans l'Indo-Pacifique et l'Atlantique tropical ; elle pourrait être une forme introduite en Méditerranée par Gibraltar, mais elle est toutefois considérée comme une immigrante lessepsienne (VERLAQUE, 1994).

Caulerpa racemosa

Caulerpa racemosa (Forssk.) J. Ag. a été signalée pour la première fois en Méditerranée orientale par RAYSS (1941). Abondante dans les mers tropicales, *C. racemosa* est considérée comme une espèce introduite en Méditerranéenne par le biais du canal de Suez (ALEEM, 1992 ; RAYSS, 1954). Elle est largement distribuée sur les côtes méditerranéennes d'Egypte, de Palestine, de Syrie (MAYHOUB, 1976) et sur les côtes du Liban (BASSON *et al.*, 1976). Deux variétés rares de *C. racemosa* ont été signalées en Méditerranée nord-orientale sur les côtes turques par ÇIRIK & OZTÜRK (1991) : *C. racemosa* var. *lamourouxii* (Turner) Weber van Bosse et *C. racemosa* var. *uvifera* (Turner) Weber van Bosse. *Caulerpa racemosa* est assez commune sur les fonds sablo-vaseux et parfois rocheux couverts de sédiments ; elle est souvent mêlée aux deux espèces précédentes sous deux formes : adulte et juvénile. La

forme juvénile de *Caulerpa racemosa* a été confondue avec *C. feldmannii* par LIPKIN (1972). Reconnue jusqu'à présent comme une forme orientale, *C. racemosa* a commencé récemment à s'étendre vers la Méditerranée occidentale. Elle a été signalée dans le golfe de Gabès sur les côtes est de Tunisie (BEN ALAYA, 1971), dans golfe de Saronikos en mer Egée (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 2001), sur les côtes de Sicile (DI MARTINO, 2001) et de la mer Tyrrhénienne au niveau de Livorno (PIAZZI *et al.*, 2001). Elle a même été signalée dans le golfe de Gênes par MATRICARDI & PIATTI (2001). S'agit-il de l'expansion de l'espèce à partir de la Méditerranée orientale ou bien de la migration par le détroit de Gibraltar comme le suggèrent CONDE (1992) et HAROUN *et al.* (1984) ?

Caulerpa prolifera

Caulerpa prolifera (Forssk.) Lamouroux est une algue autochtone de la Méditerranée, assez commune dans toutes les stations prospectées. Elle est plus abondante par fonds vaseux et rocheux couverts de sédiments entre -5 et -20 m, dans les eaux protégées et portuaires. Cette espèce pérenne sur nos côtes, est abondante entre mai et octobre. Elle est signalée par HAMEL (1930) sur les côtes de Palestine, par MAYHOUB (1976) en Syrie et par BASSON *et al.* (1976) sur les côtes du Liban. Nous l'avons observée sous forme de prairies assez denses sur des fonds rocheux dans une baie abritée près d'Heraklion sur les côtes nord de l'île de Crète.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La situation géographique du Bassin Levantin procure des caractéristiques particulières à la communauté algale. L'influence du canal de Suez sur la composition et la distribution de la flore marine est prépondérante. Parmi des centaines d'espèces animales et végétales lessepsiennes signalées en Méditerranéenne orientale (POR, 1978 ; LAKKIS, 1980), les algues occupent une place importante. Plusieurs espèces introduites se sont implantées sur les côtes libanaises formant des populations stables et permanentes. Parmi ces espèces lessepsiennes signalons chez les Rhodophyceae : *Acanthophora delilei*, *Asparagopsis taxiformis*, *Hypnea hamulosa*, *H. cornuta*, *Liagora farinosa*, *Lophocladia lallemandii* ; chez les Fucophyceae : *Styopodium schimperi*. Cette dernière envahit plusieurs biotopes et tend même à remplacer d'autres espèces (MAYHOUB & BILLARD, 1991 ; VERLAQUE & BOUDOURESQUE, 1991 ; BITAR & BITAR-KOULI, 1995). Chez les Ulvophyceae nous avons : *Acetabularia parvula*, *Caulerpa mexicana*, *C. racemosa*, *C. scalpelliformis* et parmi les Phanérogames *Halophila stipulacea* (VERLAQUE, 1994). La plupart de ces formes lessepsiennes restent cantonnées dans le bassin oriental. Quelques-unes sont déjà en voie de migration vers l'ouest de la Méditerranée. L'expansion progressive de *C. racemosa* vers la Méditerranée occidentale en mer Egée (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 2001), en mer Tyrrhénienne (PIAZZI *et al.*, 2001) et en mer Ligure (MATRICARDI & PIATTI, 2001), est-elle le résultat d'une distribution biogéographique naturelle ou bien d'un phénomène accidentel suite à l'intervention humaine comme chez *C. taxifolia* ?

En conclusion, les différents peuplements d'algues macrophytes qui caractérisent les côtes du Liban peuvent être répartis en plusieurs groupes biogéographiques distincts :

- Type méditerranéen : *Corallina elongata* et divers Cystoseires ;
- Méditerranée-Atlantique tropical et tempéré : *Cladophora prolifera*, *Amphiroa*, *Dasycladus*, *Anadyomene* ;
- Circumtropical : *Hypnea musciformis*, *H. hamulosa*, *H. cervicornis*, *Gelidium crinale*, *Gigartina acicularis*, *Bryopsis plumosa*, *Asparagopsis taxiformis* ;
- Boreal-Atlantique : *Porphyra leucosticta*, *Callithamnion corymbosum*, *Taonia atomaria* ;
- Circumboreal (Cold boreal + Subarctic) : *Enteromorpha intestinalis*, *E. clathrata*, *Ulva rigida* ;
- Indo-Pacifique : *Liagora farinosa*, *Acetabularia parvula*, *Styopodium schimperi*, *Asparagopsis taxiformis* (*Falkenbergia hillebrandii*), *Caulerpa racemosa*, *C. mexicana*, *C. scalpelliformis*.

L'étude des algues des côtes libanaises et particulièrement les espèces introduites comme les caulerpes, reste toujours incomplète. Le problème de l'expansion de *Caulerpa taxifolia* en Méditerranéenne occidentale, qui a suscité de nombreux travaux scientifiques sur ses effets néfastes sur l'écosystème côtier et ses répercussions sur l'environnement marin, reste un sujet préoccupant. Il est nécessaire de poursuivre les observations sur l'évolution de cette expansion vers d'autres secteurs en Méditerranée, et particulièrement dans le Bassin levantin.

Remerciements : Ce travail est subventionné en partie par le contrat No GF/6105-92-72 sur la Biodiversité de la flore marine du Liban, signé entre la PNUE et le ministère de l'Agriculture. Les commentaires faits par F.C. CONDE POYALES et un autre référé anonyme ont été vivement appréciés.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEEM A.A., 1948. The recent migration of certain Indo-pacific algae from the Red Sea into the Mediterranean with reference to their geographical distribution. *New Phytol.* 47 : 88-94.
- ALEEM A.A., 1950. Some new records of marine algae from the Mediterranean Sea, with reference to their geographical distribution. *Meddelander Frän Botaniska Trädgård* 18 : 275-288.
- ALEEM A.A., 1992. *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) on the Mediterranean coast of Egypt. *Phycologia* 31 (2) : 205-206.
- ALEEM A.A., 1993. The marine algae of Alexandria, Egypt. *Univ. of Alexandria*, Egypte : 154 pp.
- BASSON P.W., HARDY J.J., LAKKIS V., 1976. Ecology of marine Macroalgae in relation to pollution along the coast of Lebanon. *Acta Adriatica* XVIII : 307-325.
- BEN ALAYA H, 1971. Sur la présence de *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh dans le Golfe de Gabes et le port de Mahdia. *Bull. Inst. Océanogr. Pêche Salambó* 2 (1) : 53-54.

- BITAR G., BITAR-KOULI S., 1995. Aperçu de bionomie benthique et répartition des différents faciès dans la roche littorale à Hannouche (Liban, Méditerranée orientale). *Rapp. P.V. Réun. Comm. Int. Sci. Mer Médit.* 34 : 19.
- BOUDOURESQUE C.F., 1971a. Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Tethys* 3 (1) : 79-104.
- BOUDOURESQUE C.F., 1971b. Contribution à l'étude phytosociologique des peuplements algaux des côtes varoises. *Vegetatio* 22 : 83-184.
- BOUDOURESQUE C.F., FRESI E., 1976. Modelli di zonazione del benthos fitale in Mediterraneo. *Boll. pesca Piscic. Hydrobiol.* 31 (1-2) : 129-143.
- CARMIN J., 1934. Algae of Palestinian shores. *Bull. Inst. Monaco* 653 : 1-7.
- ÇIRIK B., OZTÜRK B., 1991. Note sur la présence d'une forme rare de *Caulerpa racemosa* en Méditerranée orientale. *Flora Mediterranea* 1 : 217-219.
- CONDE F., 1992. Otras especies aloctonas de *Caulerpa* en El-Mediterraneo. *Suplemento Actas Sociedad Espanola Ficologia*, Alicante.
- DE VAUMAS E., 1954. Le Liban : Etude de géographie physique. *Didot*, Paris : 377 pp.
- DI MARTINO V., 2001. Vegetali marini tropicali in Calabria e Sicilia (Italy). Distribuzione ed ecologia. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 395-402.
- FELDMANN J., 1958. Origine et affinité du peuplement végétal benthique de la Méditerranée. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Sci. Mer Médit.* 14 : 515-518.
- GIACCONE G., 1968. Contributo alla studio fitosociologico del popolamento algali del Mediterraneo orientale. *G. Bot. It.* 102 (6) : 485-506.
- GOEDICKE T.R., 1972. Submarine canyons on the central continental shelf of Lebanon. *The Mediterranean Sea : A Natural Sedimentation Laboratory*. Stanley D.J. Ed. Dowden Hutchinson Rose, Stroudsburg, Pennsylvania : 800 pp.
- HAMEL G., 1930. Les Caulerpes méditerranéennes. *Revue Algologique* 5 : 229.
- HAROUN R.J., GIL RODRIGEZ R.J., ALFONSO CARILLO J., WILDPRET DE LA TORRE W., 1984. Estudio ecologico y fenologico de algunas especies del genero *Caulerpa* Lamouroux presentes en el Archipiélago canario. *Actas IV Simposium Grupo Ibérico de Bentos Marino*. Lisboa.
- LAKKIS S., 1980. A comparative study of the plankton in the Red Sea and Lebanese waters (Levantine Basin). *Proc. Symp. Coast. Mar. Env. Red Sea Gulf of Aden and Tropical W. Indian Ocean*, Khartoum. UNESCO-ALECSO 2 : 541-559.
- LAKKIS S., 1982. Contribution à la connaissance de l'écosystème néritique des eaux libanaises (Méditer. orientale). *Thèse Doct. d'Etat*, Université de Paris : 520 pp.
- LAKKIS S., 1997. Biogeography of the plankton from Lebanese waters (eastern Mediterranean): the Levantine basin and species of Indo-pacific origin. *IOC Workshop Report* 142 (31) : 233-239.
- LAKKIS S., 1998. Impact de l'Eutrophisation des eaux estuariennes et côtières sur la vie marine et la santé publique. *1er Colloque Franco-Libanais sur l'eau et la Santé*, SFM & CNRSL, 15-17 octobre 1998, Beyrouth, Liban.

LAKKIS S., BITAR G., NOVEL-LAKKIS V., ZEIDANE, R., 1996. Etude de la diversité biologique au Liban : faune et flore marines et côtières. *PNUE & Ministère de l'Agriculture*, Beyrouth. Publication N° 5 : 1-126.

LAKKIS S., NOVEL-LAKKIS V., 2000. Distribution du Phytobenthos along the coast of Lebanon (Levantine Basin, East Mediterranean). *Med. Mar. Sci.* 1/2 : 143-164.

LIPKIN Y., 1972. Contribution to the knowledge of Suez canal migration. Marine algal and sea-grass flora of the Suez canal. *Israel J. Zool.* 21 : 405-446.

LIPKIN Y., 1975. *Halophila stipulacea*, a review of successful immigration. *Aquat. Bot.* 1 : 203-215.

MATRICARDI G., PIATTI F., 2001. Morphological features of the first settling of *Caulerpa racemosa* in the gulf of Genoa (North Western Mediterranean). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 349-351.

MAYHOUB H., 1976. Recherches sur la végétation marine de la côte syrienne. Etude expérimentale de la morphogenèse et le développement de quelques espèces peu connues. *Thèse Doct. Ès-Sciences naturelles, Univ. Caen*, France : 286 pp.

MAYHOUB H., BILLARD C., 1991. Contribution à la connaissance d'un *Styopodium* (Dictyotales, Phaeophyceae) installé récemment sur les côtes syriennes. *Cryptogam. Algol.* 12 : 125-135.

MEINESZ A., HESSE B., 1991. Introduction et invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée nord-occidentale. *Oceanol. Acta* 14 : 415-426.

MOLINIER R., 1960. Etudes des biocénoses marines du Cap Corse. *Vegetatio* 9 : 121-312.

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 2001. Occurrence and phytosociology of *Caulerpa racemosa* in Saronikos Gulf (Aegean Sea, Greece). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 334-337.

PAPENFUSS G.E., 1968. A history, catalogue, and bibliography of the Red Sea benthic algae. *Israel J. Bot.* 17 : 1-118.

PÉRÈS J.M., 1967. The Mediterranean benthos. *Oceanogr. Mar. Biol.* 5 : 449.

PIAZZI L., CECCHERELLI G., BALATA D., CINELLI F., 2001. Description des peuplements à *Caulerpa taxifolia* et à *Caulerpa racemosa* à Calafuria (Livorno). *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 345-348.

POR F.D., 1978. Lessepsian migration. The influx of Red Sea biota into the Mediterranean by way of the Suez canal. *Ecological Studies* 23, *Spring Verlag*, Berlin, Germany : 228 pp.

RAYSS T., 1941. Sur les Caulerpes de la côte palestinienne. *Palest. J. Bot.* 2 : 103-124.

RAYSS T., 1954. Les algues tropicales de la Méditerranée orientale et leur origine probable. *Rapp. Commission du 8ème Congrès int. de Botanique*, Paris, Sect. 17 : 148-149.

RAYSS T., 1955. Les algues marines des côtes de Palestine : I. Chlorophyceae. *Bull. Sea Fish. Res. Stn. Haifa* 23 : 1-32.

RAYSS T., EDELSTEIN T., 1960. Deux caulerpes nouvelles sur les côtes méditerranéennes d'Israël. *Rev. Gén. Bot. Fr.* 67 : 602-620 + 1 pl.

RIBERA M.A, BOUDOURESQUE C.F., 1995. Introduced marine plants, with special reference to macroalgae : mechanisms and impact. *Progress in Phycological Research* 11 : 217-268.

SAFRIEL U.N., RITTE U., 1986. Suez canal migration and Mediterranean colonization. Their relative importance in Lessepsian migration. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Sci. Mer Médit.* 29 (5) : 259-263.

SANLAVILLE P., 1977. Etude géomorphologique de la région littorale du Liban. *Publication de l'Université Libanaise, Section des Etudes géographiques* : 800 pp.

STRICKLAND J.D.H., PARSONS T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. 2nd ed. *Bull. Fish. Res. Board Can.* 122 : 172 pp.

VERLAQUE M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanologica Acta* 17 (1) : 1-23.

VERLAQUE M., BOUDOURESQUE C.F., 1991. *Stypopodium schimperi* (Buchinger ex Kützing) Verlaque et Boudouresque comb. nov. (Dictyotales, Fucophyceae), algue de la mer Rouge récemment apparue en Méditerranée. *Cryptogam. Alg.* 12 : 195-211.

OBSERVATIONS OF *CAULERPA RACEMOSA* IN TURKISH COASTS OF THE AEGEAN SEA AND THE MEDITERRANEAN SEA

Mustafa TOLAY¹, Ates EVIRGEN² & Sükran CIRIK³

¹ Scubadivers Sport Club, Iskele Çikmazi, No:69, 81070, Caddebostan / Istanbul, Turkey

² Underwater Magazine, Ethemefendi Cad., No 147, D:6, 81060, Erenköy / Istanbul, Turkey

³ University of Dokuz Eylül, Marine Science and Tech Dept., Inciralti, 35340 / Izmir, Turkey

Key words: *Caulerpa racemosa*, *Posidonia oceanica*, Lessepsian migration, Mediterranean Sea, Aegean Sea, Gökova, Bodrum, Marmaris, Turkey, Biogeography, Marine habitats, Scuba diving.

ABSTRACT

Caulerpa racemosa is a tropical species widely distributed throughout the world that immigrated to the Mediterranean from the Red Sea via the Suez Channel. Since the beginning of the 20th century, the tropical seaweed *C. racemosa*, which is known as a Lessepsian migrant, has been observed in the Mediterranean Sea. But it became an invasive species in the Mediterranean since the early 90s. Although it had always been considered as a rare species, in the last six years, *C. racemosa* has notably colonized the Turkish coasts of the Aegean and Mediterranean Sea of Turkish region. *In situ* observations are still being carried out and the characteristics of this seaweed have been described by CIRIK and co-workers (CIRIK, 1998; TOLAY *et al.*, 1998). In this study, the observations and determinations of *C. racemosa* (Forsskål) J. Agardh at Mersincik Island and the Yediadalar stations of Gökova Bay, and also at the Kargi island-Akyarlar, Karaincir beach, Kargi beach, Gümüslük, Aspat areas of Bodrum, in Marmaris (between the Aegean Sea and the Mediterranean Sea) and in the Güzelçamlik area of Kusadasi, in Çesme (Aegean Sea) are reported. Several SCUBA diving techniques have been used by scientist divers down to 60 m depths for *in situ* observations and mapping. The characteristics of this alga and its habitat are described. It was observed that *C. racemosa* has spread to the northern Aegean coast of Turkey.

RÉSUMÉ

Sur les côtes de Turquie plusieurs espèces de Caulerpes existent : *Caulerpa prolifera*, *Caulerpa ollivieri*, *Caulerpa racemosa*, *C. racemosa* var. *lamourouxii* f. *requienii*. Les deux premières espèces sont indigènes. *C. racemosa* a une tendance à s'étendre sur les côtes turques. Il y a dix ans, on l'observait dans la partie sud tandis qu'actuellement elle remonte vers le nord de la Mer Egée. *C. racemosa* a été récoltée dans la partie sud (Kemer, Tasucu, Kas) et ouest (Bodrum, Gökova, Marmaris, Kusadasi, Çesme) de Turquie. La forme envahissante de *C. racemosa* (Forsskål) J. Agardh possède un thalle siphonné à différenciation accentuée. Le thalle est cylindrique, stolon, allongé horizontalement et s'agrandit de manière apicale. Grâce à ses rhizoïdes incolores ramifiés, l'algue se fixe facilement sur le substrat meuble. Dans la partie supérieure du thalle, les ramules vésiculées ont l'aspect de grappes de raisin. La longueur de ces vésicules est d'environ 3 mm, de diamètre 1 à 1.5 mm. La partie apicale des vésicules est plate.

INTRODUCTION

Caulerpa racemosa (Forsskål) J. Agardh is a tropical seaweed of wide distribution throughout the world, very common in the Red sea (CIRIK & ÖZTURK, 1991). *C. racemosa*, which is currently colonizing the Mediterranean, may present different morphological characteristics from one region to another and from the specimens described in the same region at the beginning of the 20th century. It reproduces vegetatively by extension of its stolon through the sediments or over rocky or muddy substrata. Generally, the thallus of *C. racemosa* is composed of 1-1.5 mm thick and 25-50 cm long stolons with ramified rhizoids. Branchlets are 4-5 mm long and spherical parts are 4-5 mm long and 2-3 mm wide (PIAZZI *et al.*, 1994). The greatest difference between *C. racemosa*, widespread in the Eastern Mediterranean region, and *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, introduced in the western Mediterranean as the result of anthropogenic input, is morphological. *C. racemosa* has features grape-like features on its thallus. On the other hand, the leaves of *C. taxifolia* look like the leaves of the *Taxus* tree.

The first observation of *Caulerpa racemosa* in the Mediterranean was made by HAMEL (1926) who collected it in Tunisia. Later, it was sighted in Egypt (ALEEM, 1948), in Lebanon and Syria (HAMEL, 1930; RAYSS, 1941), in Israel (RAYSS & EDELSTEIN, 1960). In spite of its relatively frequent occurrence along the southern and eastern Mediterranean, this species had not been previously recorded in the northern Mediterranean. From the beginning of the 90s, in addition to the discovery of new sites in the Eastern Mediterranean countries, *C. racemosa* has recently been observed in Italy (ALONGI *et al.*, 1993; PIAZZI *et al.*, 1994; PIAZZI *et al.*, 1997), in Greece (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 1994) in Turkey (CIRIK & ÖZTURK, 1991) and in France. During the last six years, a massive occurrence of *C. racemosa* was reported from the Mediterranean coasts of Egypt (ALEEM, 1992), from Tunisia (DJELLOULI *et al.*, 1998) from Italian coasts (PIAZZI *et al.*, 1997) and from Greek coasts (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 1998). *C. racemosa* has to be considered a Lessepsian immigrant and according to the first observations displayed invasive behaviour in certain points. It also demonstrated great ecological adaptability and had a significant effect on indigenous communities. It develops equally well in both clean and polluted water. It has been reported that *C. racemosa* colonizes all types of substrate such as rock, sand, mud and dead seagrass meadows even if in deep water.

With regard to the status of the *Caulerpa* genus along the Turkish Mediterranean coast, three species *Caulerpa prolifera*, *Caulerpa ollivieri* and *Caulerpa racemosa* were reported by CIRIK (1998). *C. racemosa* was known to be present in the South and South-Western Turkey (CIRIK & ÖZTURK, 1991; CIRIK & CIRIK, 1995; CIRIK, 1998; TOLAY *et al.*, 1998; EVIRGEN *et al.*, 1998). The species has begun to form populations of high density, in grapes-like fields, particularly in the Bodrum-Gökova area and partially in Kemer, Tasucu, Kas, Kusadasi, Çesme and Marmaris in Turkey. The aim of this study is to investigate the further spread of *Caulerpa racemosa* on the Turkish coasts of the Aegean Sea and the Mediterranean Sea and to observe the ecological effects on habitats.

MATERIAL AND METHODS

In 1993, after the first announcement of *Caulerpa racemosa* in the Bodrum Peninsula, it was decided to monitor the growth of this species on different substratum and in different location and also to investigate the character of the colonization in different habitats along the Turkish coasts. The observations and identifications of *C. racemosa* in this study were performed using by SCUBA diving and underwater mapping techniques from shallow water down to the 60 m depth between September 1995 and August 1998. Underwater photographs were taken with Sea & Sea SX-1000 camera especially in the Gökova Bay and in Bodrum Peninsula stations (fig. 1).

OBSERVATIONS AND RESULTS

On the Aegean Sea coasts *Caulerpa racemosa* continues to exhibit abundant large green tufts and colonizes the bottoms down to 60 m depth, coexisting with other plants such as *Posidonia oceanica*, *Caulerpa prolifera*, *Padina pavonica*, *Cystoseira* spp., *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii*. *Caulerpa racemosa* shows a siphoned thallus, is composed of cylindrical ground stolons and has in the lower part colourless rhizoid tufts and in the upper part a strait stem with the bunch of grapes-like aspect. It was reported that *C. racemosa* has also spread to the northern Aegean Sea. In order to explain this spread, two hypotheses were proposed by PANAYOTIDIS & MONTESANTO (1998) that either it is a example of *global climatic change*, or it is the result of human impact on coastal Mediterranean ecosystems and especially of the seagrass beds, which are in decline and offer habitats to the introduced species.

During the last few years the tropical alga *Caulerpa racemosa* which is a Lessepsian migrant has been observed in Turkish-Mediterranean coasts. In 1991, it was found at different depths in Akkuyu (Mersin) and Kemer-Üçadalar (Antalya) regions of Turkey (CIRIK & OZTURK, 1991). The species has begun to form populations of high density in grapes-like fields in the Bodrum-Gökova area in particular, but also partially in Kemer, Tasucu, Kas, Kusadasi, Çesme and Marmaris. In various locations of the Bodrum Peninsula, small patches of *C. racemosa* have been observed since 1993 with increasing number at different depths (CIRIK, 1998; CIRIK & CIRIK, 1995; EVIRGEN *et al.*, 1998). The observations and identification of *C. racemosa* at Mersincik Island and Yediadalar stations (Gökova Bay), and also at Kargi island-Akyarlar, Karaincir beach, Kargi beach, Aspat stations (Bodrum) and at Marmaris between the Aegean Sea and Mediterranean, and in the Güzelçamlik station (Kusadasi) at Çesme in the Aegean Sea are reported in this study (fig. 2). For this research program, observations of *C. racemosa* have been carried out on Turkish coasts by SCUBA diving since 1995. During the *in situ* observations and mapping in the Bodrum-Gökova region, the *C. racemosa* specimens were found on all types of substrate such as rock, sand, mud and dead *Posidonia oceanica* and *Zostera noltii* meadows. In some places, *C. racemosa* colonies cover the wrecks and amphoras down to 60 m depth and compete with marine coastal bioceonoses. Especially in Kargi Island (Akyarlar-Bodrum), *C. racemosa* can be seen in massive colonies between 15 and 40 m over rocky bottoms and also in shallow (5-6 m depth) and deep waters as well as in Gökova Bay. In Çesme , the colonies of *C.*

racemosa were observed at two different locations (in Keçi island and in Cennet island) with small patches of 2 m² down to 20 m depth in 1998. Some small patches of *C. racemosa* were also observed in the Güzelçamlik station (Kusadasi) on sandy bottoms or over rocky substrate like at in Marmaris. In some coastal zones of Aegean Sea, *C. racemosa* forms green monospecific massive colonies over rocky bottoms as well as on vertical rocky substrate like in Bodrum. At various sites, it appeared between photophilic algae over rocky bottoms as scattered patches. It was observed that, on sandy bottoms, *C. racemosa* forms mixed populations with *Caulerpa prolifera*, *Cymodocea nodosa* and in some places with *Zostera noltii* and *Posidonia oceanica*.



Figure 1. *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Photo: by Ates EVIRGEN).

DISCUSSION

The results of this study have shown *Caulerpa racemosa* increased its colonised surface from the beginning of 1993 to the end of 1998. Using underwater mapping techniques it was established that large areas are still colonised either massively or in scattered patches by *C. racemosa* particularly in the Bodrum Peninsula and Gökova Bay, and to some extent in Marmaris, Kusadasi, Çesme and Kas. It has been observed that *C. racemosa* has spread to the northern Aegean coast of Turkey. The general conclusions and recommendations for the invasion of *C. racemosa* can be summarized below as described previously at the UNEP Workshop (MEINESZ *et al.*, 1998). *C. racemosa* has not been studied intensively, like *Caulerpa taxifolia*. Nevertheless, the following can be concluded based on the available on *C. racemosa* inhabiting the Mediterranean. *C. racemosa*, which is currently colonizing the Mediterranean, may present different morphological characteristics from one region to another and from the specimens described in the same region at the beginning of the 20th century. *Caulerpa racemosa* colonizes all types of substrate as rock, sand, mud and dead *Posidonia* meadows down to 60 m depth and interferes with marine coastal bioceonoses. Also, it develops equally well in both clean and polluted water. It is necessary to monitor the spread of *C.*

racemosa along Mediterranean coasts to compare its biological and ecological effect on the diversity of the marine species.

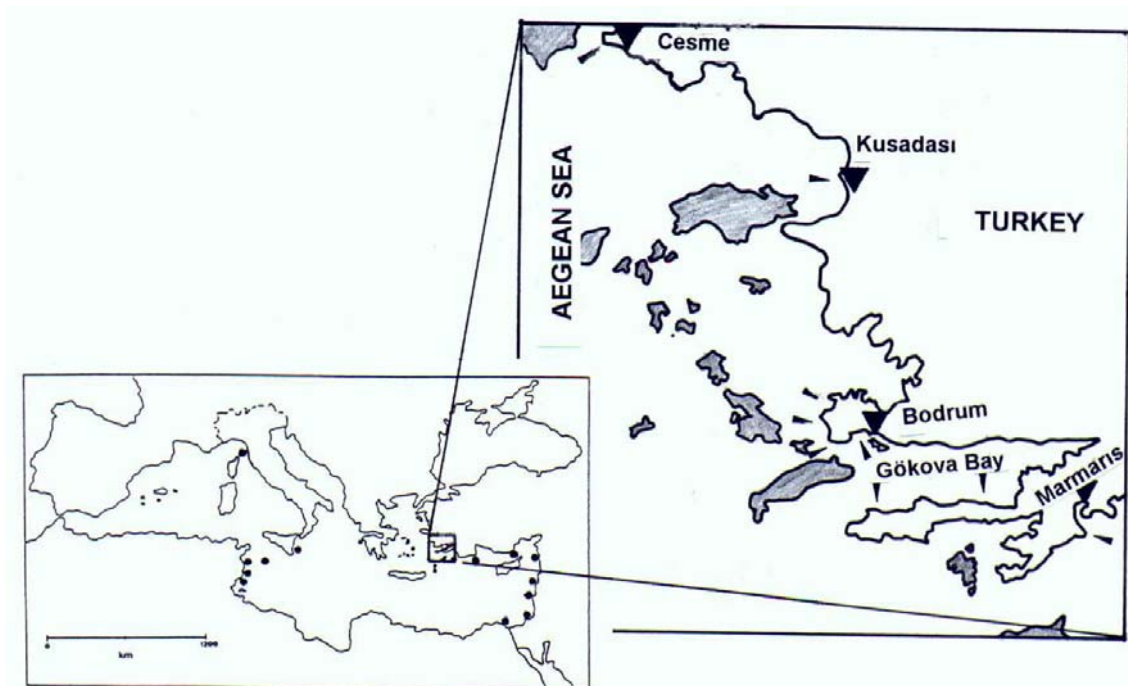


Figure 2. Distribution of *Caulerpa racemosa* in the Aegean Sea and the Mediterranean Sea of Turkish region (∇ in this study; ● previous records).

Acknowledgements: We are very grateful to Mr. Mehmet BAS and Mr. Mustafa MAGDENLI (scuba divers in Bodrum, Turkey) for valuable help in the field during this study.

REFERENCES

ALEEM A.A., 1948. The recent migration of certain Indopacific algae from the red Sea into the Mediterranean. *New Phytol.* 47 : 88-94.

ALEEM A.A., 1992. *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) on the Mediterranean coast of Egypt. *Phycologia* 31 (2) : 205-206.

ALONGI G., CORMACI M., FURMARI G., GIACCONE G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Bollettino delle sedute Accademia Gioenia di Scienze Naturali*, Catania 342 : 49-53.

CIRIK S., 1998. The distribution of the immigrant Lessepsian seaweeds, encountered in Eastern Mediterranean, along the Turkish coast (in Turkish). *Symposium for the environmental problems of Bodrum Peninsula*, 15-19 Feb., Bodrum, Turkey.

CIRIK S., CIRIK S., 1995. Evolution des aires de développement de *Caulerpa racemosa* et *Halophila stipulacea* sur les côtes orientales de la Méditerranée (Turquie). *Second Congress for National Ecology*, 11-13 Sept, Ankara, Turkey.

CIRIK S., ÖZTURK B., 1991. Notes sur la présence d'une forme rare du *Caulerpa racemosa* en Méditerranée orientale. *Flora Mediterranea* 1 : 217-219.

DJELLOULI A., LANGAR H., EL ABED A., 1998. *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh : Biogéographie et écologie. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 233-238.

EVIRGEN A., BAS M., TOLAY M., 1998. Observations of *Caulerpa racemosa* in Bodrum Coasts. *Symposium for the environmental problems of Bodrum Peninsula*, 15-19 Feb., Bodrum, Turkey.

HAMEL G., 1926. Quelques algues rares ou nouvelles pour la flore méditerranéenne. *Bulletin du Muséum d'Histoire naturelle de Paris* 6 : 620.

HAMEL G., 1930. Les Caulerpales méditerranéennes. *Revue algologique* 6 : 229-230.

MEINESZ A., COTTALORDA J.M., CHIAVERINI D., CASSAR N., VAUGELAS J. de, 1998. Suivi de l'invasion de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia* en Méditerranée : Situation au 31 décembre 1997. *Laboratoire Environnement Marin Littoral* publ., Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France.

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 1994. *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) on the Greek coasts. *Cryptogamie Algol.* 15 (2) : 159-161.

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 1998. Recent expansion of *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 239-241.

PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie, Algol.* 15 (3) : 183-189.

PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997. Expansion de l'Algue Tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidopyceae, Chlorophyta) le long de la côte toscane (Italie). *Cryptogamie, Algol.* 18 (4) : 343-350.

RAYSS T., 1941. Sur les Caulerpes de la côte Palestinienne. *Palestine Journal of Botany, Jerusalem Series* 2 : 103-124.

RAYSS T., EDELSTEIN T., 1960. Deux Caulerpes nouvelles sur les côtes méditerranéennes d'Israël. *Revue Générale de Botanique* 67 : 602-619.

TOLAY M., EVIRGEN A., CIRIK S., 1998. Observations of *Caulerpa racemosa* in Bodrum-Gökova Coasts in the Turkish Mediterranean Region. *SECOTOX 98 International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety*, 19-21 October, Antalya, Turkey.

OCCURRENCE AND PHYTOSOCIOLOGY OF *CAULERPA RACEMOSA* IN SARONIKOS GULF (AEGEAN SEA, GREECE)

P. PANAYOTIDIS¹ & B. MONTESANTO²

¹ National Center for Marine Research, 16604 Agios Kosmas, Hellenikon, Greece

² Athens University, Section of Ecology & Systematics, 15784 Panepistimiopolis, Athens, Greece

ABSTRACT

The green alga *Caulerpa racemosa* was studied in the upper infralittoral zone of Saronikos Gulf. In the studied area, *C. racemosa* was an important element of the marine vegetation on hard substrata, associated with photophilic algae. On soft substrata *C. racemosa* was also observed, associated with *Posidonia oceanica*, *Cymodocea nodosa*, *Halophila stipulacea* and *Caulerpa prolifera*.

RÉSUMÉ

L'algue verte *Caulerpa racemosa* a été étudiée dans zone infralittorale supérieure du Golfe de Saronikos. Dans le site étudié, *C. racemosa* constitue un élément important de la végétation marine des substrats durs, associée avec des algues photophiles. Sur substrats meubles, *C. racemosa* est également présente, associée à *Posidonia oceanica*, *Cymodocea nodosa*, *Halophila stipulacea* et *Caulerpa prolifera*.

INTRODUCTION

The species *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh (Caulerpales, Chlorophyceae), a Lessepsian migrant, has become an invasive species in the Eastern Mediterranean since the early '90. In Greece, *C. racemosa* was first observed in 1993 in the Ionian Sea (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 1994), as a rare species, on deep sandy bottoms related with *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadows. In the next five years the species became common in many Aegean bays, near the surface, on soft as well as on hard substrata (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 1998).

In Saronikos Gulf, *Caulerpa racemosa* was observed at 1996 (NCMR, 1997; CHRYSOVERGIS & PANAYOTIDIS, 1998), at one location near the entrance of the gulf, in an unpolluted bay. Its presence was rather discrete, making a small contribution to a photophilic algal association. The present study is focusses on the phytosociological context of *C. racemosa* occurring in the Gulf of Saronikos.

MATERIAL AND METHODS

The present study is based on samplings carried out during winter 1997 and summer 1998, at one sampling station in Saronikos Gulf (37°43'30" N, 23°54'50" E). The sampling was destructive on a surface 20 cm X 20 cm, which is considered to be the minimum sampling area for the infralittoral communities for the Mediterranean (DHONT & COPPEJANS, 1977; BOUDOURESQUE & BELSHER, 1979).

The identification of the algae was carried out at the Biodiversity Laboratory of the National Centre for Marine Research, using the check-lists proposed by RIBERA *et al.* (1992) for the Fucophyceae, GALLARDO *et al.* (1993) for the Chlorophyceae and ATHANASIADIS (1987) for the Rhodophyceae. The measurements of Coverage (percentage of the sampling surface covered by a species) were performed according to BOUDOURESQUE (1971) and VERLAQUE (1987), for all species covering at least 1 % of the sampling surface. A conventional value (=0.05 %) was given to the other species.

RESULTS

In the studied area, *Caulerpa racemosa* was an important element of the marine vegetation (tab. 1), associated with photophilic algae, mainly brown algae such as *Cystoseira* spp., *Padina pavonica*, *Halopteris scoparia* and red algae such as *Jania* spp., *Corallina* spp. and small Ceramiaceae species. The abundance of *C. racemosa* was highest during the summer sampling. The algal association in which *C. racemosa* was observed could be described as a typical and well developed *Cystoseiretum crinitae* Molinier, 1958 (MOLINIER, 1960).

Locally, on vertical rocky bottoms, monospecific populations of *C. racemosa* were observed. On soft bottoms *C. racemosa* was also observed, associated with *Posidonia oceanica*, *Cymodocea nodosa*, *Halophila stipulacea* and *Caulerpa prolifera*.

REFERENCES

- ATHANASIADIS A., 1987. A survey of the Aegean Sea, with taxonomic studies on the species of the tribe Antithamnieae (Rhodophyta). *PhD Thesis, University of Goteburg* : 174 pp.
- BOUDOURESQUE C.F., 1971. Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Tethys* 3 (1) : 79-104.
- BOUDOURESQUE C.F., BELSHER T., 1979. Le peuplement algal du port de Port-Vendres : Recherches sur l'aire minimale qualitative. *Cah. Biol. mar.* 20 : 259-269.
- CHRYSOVERGIS F., PANAYOTIDIS P., 1998. Etude du phytobenthos des côtes SE d'Attique, en vue de l'installation du réseau d'assainissement des eaux usées de la banlieue Est d'Athènes. *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Explor. Sci. Mer Médit.* 35 (2) : 350-351.

Table 1. Macroalgae flora on the rocky substrata of the upper infralittoral zone, at 02 / 1997 and 08 / 1998.

SPECIES	02 / 1997	08 / 1998
CHLOPHYCEAE		
<i>Pringsheimiella scutata</i> (Reinke) Marchewianka	0.05	0.05
<i>Enteromorpha</i> sp.	2.00	0.00
<i>Ulva rigida</i> C. Agardh	0.00	1.00
<i>Anadyomene stellata</i> (Wulfen) Kützing	0.00	1.00
<i>Cladophora prolifera</i> (Roth) Kützing	1.00	0.00
<i>Valonia utricularis</i> (Roth) C. Agardh	1.00	1.00
<i>Bryopsis plumosa</i> (Hudson) C. Agardh	1.00	0.05
<i>Caulerpa racemosa</i> (Forsskål) Lamouroux	5.00	28.00
<i>Halimeda tuna</i> (Ellis & Solander) Lamouroux	0.00	4.00
<i>Flabelia petiolata</i> (Turra) Nizamuddin	2.00	2.00
<i>Dasycladus vermicularis</i> (Scopoli) Krasser	0.05	0.05
FUCOPHYCEAE		
<i>Ectocarpus confervoides</i> (Roth) Kjellmann	10.00	0.00
<i>Sphacelaria cirrosa</i> (Roth) C. Agardh	10.00	0.05
<i>Halopteris scoparia</i> (Linnaeus) Kützing	50.00	7.00
<i>Padina pavonica</i> (Linnaeus) Lamouroux	1.00	17.00
<i>Cystoseira compressa</i> (Esper) Gerloff & Nizamuddin	5.00	15.00
<i>Cystoseira crinita</i> (Desf.) Bory	10.00	100.00
<i>Cystoseira crinitophylla</i> Ercegovic	40.00	0.00
<i>Cystoseira mediterranea</i> Sauvageau	5.00	10.00
RHODOPHYCEAE		
<i>Erythrotrichia carnea</i> (Dillwyn) J. Agardh	0.05	0.05
<i>Audouinella daviesii</i> (Dillwyn) Woelkerling	1.00	0.05
<i>Pterocladia capillacea</i> (Gmelin) Bornet & Thuret	0.05	0.00
" <i>Falkenbergia rufolanosa</i> " stadium (Harvey) Schmitz	0.05	0.00
<i>Corallina elongata</i> Ellis & Solander	30.00	4.00
<i>Fosliella farinosa</i> (Lamouroux) Howe	2.00	1.00
<i>Pneophyllum lesolisii</i> (Rosanoff) Chamberlain	3.00	1.00
<i>Jania longifurca</i> Zanardini	4.00	10.00
<i>Jania rubens</i> (Linnaeus) Lamouroux	10.00	15.00
<i>Peyssonnelia</i> sp.	0.00	2.00
Ceramiales undetermined	2.00	0.00
<i>Ceramium ciliatum</i> (Ellis) Ducluzeau	0.05	0.05
<i>Ceramium circinatum</i> (Kützing) J. Agardh	0.05	0.00
<i>Ceramium comptum</i> Börgesen	0.05	0.00
<i>Ceramium diaphanum</i> (Lightfoot) Roth	2.00	0.05
<i>Ceramium taylori</i> Dowson	0.05	0.00
<i>Crouania attenuata</i> (C. Agardh) J. Agardh	0.05	0.00
<i>Anotrichium tenue</i> (C. Agardh) Nägeli	0.05	0.00
<i>Monosporus pedicellatus</i> (Smith) Solier in Castagne	0.05	0.00
<i>Dasya corymbifera</i> J. Agardh	2.00	0.00
<i>Griffithsia schousboei</i> Mont.	0.00	1.00
<i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen in Jacquin) Lamouroux	0.00	1.00
<i>Dipterosiphonia rigens</i> (Schousboe ex C. Ag.) Falk.	1.00	0.00
<i>Herposiphonia secunda</i> (C. Agardh) Ambronn. f. secunda	1.00	0.05
<i>Laurencia obtusa</i> (Hudson) Lamouroux	0.00	1.00
<i>Polysiphonia furcellata</i> (C. Agardh) Harvey in Hooker	0.05	0.05
<i>Polysiphonia sertularioides</i> (Grateloup) C. Agardh	0.05	0.00

DHONT F., COPPEJANS E., 1977. Résultats d'une étude d'aire minima des peuplements algaux photophiles sur substrat rocheux à Port-Cros et à Banyuls (France). *Rapp. P.V. Réun. Comm. int. Explor. Sci. Mer Médit.* 24 (4) : 141-142.

GALLARDO T., GOMEZ-GARRETA A., RIBERA M.A., CORMACI M., FURNARI G., GIACONNE G., BOUDOURESQUE C.F., 1993. Check-list of Mediterranean Seaweed. II. Chlorophyceae Wille s.l. *Bot. Mar.* 36 : 399-421.

MOLINIER R., 1960. Etudes des biocénoses marines du Cap Corse. *Vegetatio* 9 (3&5) : 121-192 & 217-312.

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 1994. *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) on the Greek coasts. *Cryptog. Algol.* 15 (3) : 159-161.

PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 1998. Recent expansion of *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) in the Mediterranean. *Third int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Gravez V., Meinesz A., Palluy F. eds., GIS Posidonie publ., France : 239-241.

RIBERA M.A., GOMEZ-GARRETA A., GALLARDO T., CORMACI M., FURNARI G., GIACONNE G. 1992. Check-list of Mediterranean seaweed. I. Fucophyceae (Warming, 1884). *Bot. Mar.* 35 : 109-130.

VERLAQUE M., 1987. Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin en Méditerranée occidentale. *Thèse Doct. Etat-Sciences*, Univ. Aix-Marseille II, France : 389 pp.

LA PRÉSENCE DE *CAULERPA RACEMOSA* LE LONG DES CÔTES SEPTENTRIONALES DE LA TOSCANE ET LES CONSÉQUENCES POSSIBLES SUR L'ACTIVITÉ DE PÊCHE

Michele MAGRI¹, Luigi PIAZZI² & Fabrizio SERENA¹

¹ ARPAT Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana, via Marradi 114, Livorno 57127 Italia

² Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, via A. Volta 6, Pisa 56126, Italia

ABSTRACT

The tropical Bryopsidophyceae *Caulerpa racemosa* reported in 1993 around the Meloria shoals and during the following years along the coast of Leghorn, is now fast spreading north of the Arno river. The alga was found on sandy bottoms from 5 to 20 m depth along the 30 km of coast between Leghorn and Viareggio. The proliferation of this species has had a negative impact on the fishing industry in an area considered as a very productive one. Although it is difficult to correlate fish abundance with the presence of *C. racemosa* in that area as yet, there is no doubts about the damage caused to fishery by *C. racemosa*, through trapping of fragments in the nets which has led to a decrease in catches in the colonized areas.

RÉSUMÉ

La Bryopsidophyceae tropicale *Caulerpa racemosa*, signalée en 1993 sur les Sèches de la Meloria et dans les années suivantes le long de la côte livournaise, a récemment commencé à se propager au nord du fleuve Arno. L'algue a été trouvée sur des fonds sableux de 5 à 20 m de profondeur le long de 30 km de côte entre les villes de Livourne et Viareggio. La prolifération de cette espèce a entraîné des conséquences négatives pour l'activité de pêche dans une zone considérée comme très productive. Il est difficile de mettre en relation la quantité de poisson capturée dans l'aire considérée avec l'envahissement de *C. racemosa*, mais le dommage que l'algue a causé au travail des pêcheurs en s'accrochant à leurs engins a sans doute conduit à une diminution des captures dans les zones colonisées.

INTRODUCTION

En plusieurs secteurs de la Méditerranée, la colonisation des fonds littoraux par des espèces algales allochtones est en train de modifier les écosystèmes côtiers (VERLAQUE, 1994). Les effets les plus importants de ces envahissements sont surtout liés à la diminution de la diversité spécifique (AIROLDI *et al.*, 1994 ; VERLAQUE & FRITAYRE, 1994) mais, en plusieurs localités de l'Italie et de la France, des conséquences négatives sur la pêche côtière ont été mises en évidence à la suite de la colonisation de *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston (CINELLI *et al.*, 1984), de *Wormersleyella setacea* (Hollenberg) R. E. Norris (VERLAQUE, 1989) et de *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (VERLAQUE, 1994). La Bryopsidophyceae *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh a commencé à se développer en Méditerranée

occidentale il y a 5 ans. Le long des côtes toscanes, l'espèce est rapidement devenue commune sur les Sèches de la Meloria (DE BIASI *et al.*, 1998 ; PIAZZI *et al.*, 1997), une large zone de bas fonds située devant le port de Livourne. Dans les zones atteintes, *C. racemosa* a montré un comportement envahissant, en augmentant fortement la surface colonisée avec des valeurs de recouvrement qui restent supérieures à 80 % entre juillet et novembre (PIAZZI & CINELLI, 1999 ; PIAZZI *et al.*, 1999).

A partir de 1996, l'espèce a été trouvée le long de la côte septentrionale de la Toscane. Ce travail a pour but d'étudier la propagation vers le nord de l'espèce et d'évaluer les effets de la présence de l'algue sur la pêche dans une zone considérée très productive.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La zone d'étude comprend la côte septentrionale de la Toscane, de Livourne à l'estuaire du fleuve Magra. La propagation de *Caulerpa racemosa* a été évaluée grâce à des fragments de l'algue accrochés sur les engins des pêcheurs professionnels.

Les effets de la présence de *C. racemosa* sur l'activité de pêche ont été évalués grâce aux informations fournies par les pêcheurs professionnels. La flotte de pêche de Livourne est composée d'environ 150 bateaux de 4 tonneaux de jauge brute dotés de moteurs d'une puissance moyenne de 31 Hp. Les aires fréquentées sont les sèches au large, les Sèches de la Meloria et la zone côtière de Livourne jusqu'à l'estuaire du fleuve Arno. Les données utilisées se réfèrent à l'activité d'une cinquantaine de bateaux opérant dans cette dernière zone lesquels représentent un tiers de la flotte. La période considérée va de 1991 à 1998. Les paramètres suivants ont été utilisés : prises (en tonnes : t), jours d'activité (en jours : d) et prises par unité d'effort (PUE : t.d⁻¹).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Caulerpa racemosa a été trouvée le long de 30 km de côte entre les villes de Livourne et Viareggio sur des fonds sableux de 5 à 20 m de profondeur (fig. 1). Les courants dominants le long de la côte toscane se dirigent du sud vers le nord (GASPARINI *et al.*, 1986), ce qui pourrait expliquer la dynamique de la dispersion de l'espèce à partir des peuplements colonisant les Sèches de la Meloria. Une dynamique de propagation semblable a été décrite pour l'autre espèce algale introduite *Acrothamnion preissii* qui, à partir de Livourne, a ensuite colonisé les côtes liguriennes et françaises (VERLAQUE, 1994). A propos des fragments de *C. racemosa* trouvés accrochés aux filets des pêcheurs, il est difficile de comprendre s'il s'agit de fragments détachés des Sèches de la Meloria et transportés par les courants ou d'algues établies sur le fond. En l'état actuel de nos connaissances il n'est donc pas possible de quantifier la colonisation réelle de l'espèce dans l'aire d'étude.

L'analyse des prises et des jours d'activité par mois montre que la partie moyenne de l'année représente la période où, en utilisant des filets dormants, on obtient les rendements les plus élevés (fig. 2). Entre 1991 et 1998 les prises par an ont montré une

diminution avec une valeur la plus faible en 1997 (fig. 3), année correspondant à une présence accrue de *C. racemosa* dans l'aire d'étude. L'analyse des prises par unité d'effort (PUE) a montré également une diminution sensible en 1997 (fig. 4 et tab. 1).

Tableau 1. Captures annuelles (t), jours de pêche (d) et PUE dans l'aire considérée (t.d⁻¹).

Année	Captures (t)	Jours (d)	PUE (t.d ⁻¹)
1991	68.5356	787	0.087
1992	98.5336	915	0.108
1993	84.336	535	0.158
1994	50.8369	504	0.101
1995	55.4364	557	0.100
1996	51.4544	370	0.139
1997	22.5789	270	0.084
1998	52.3095	547	0.096

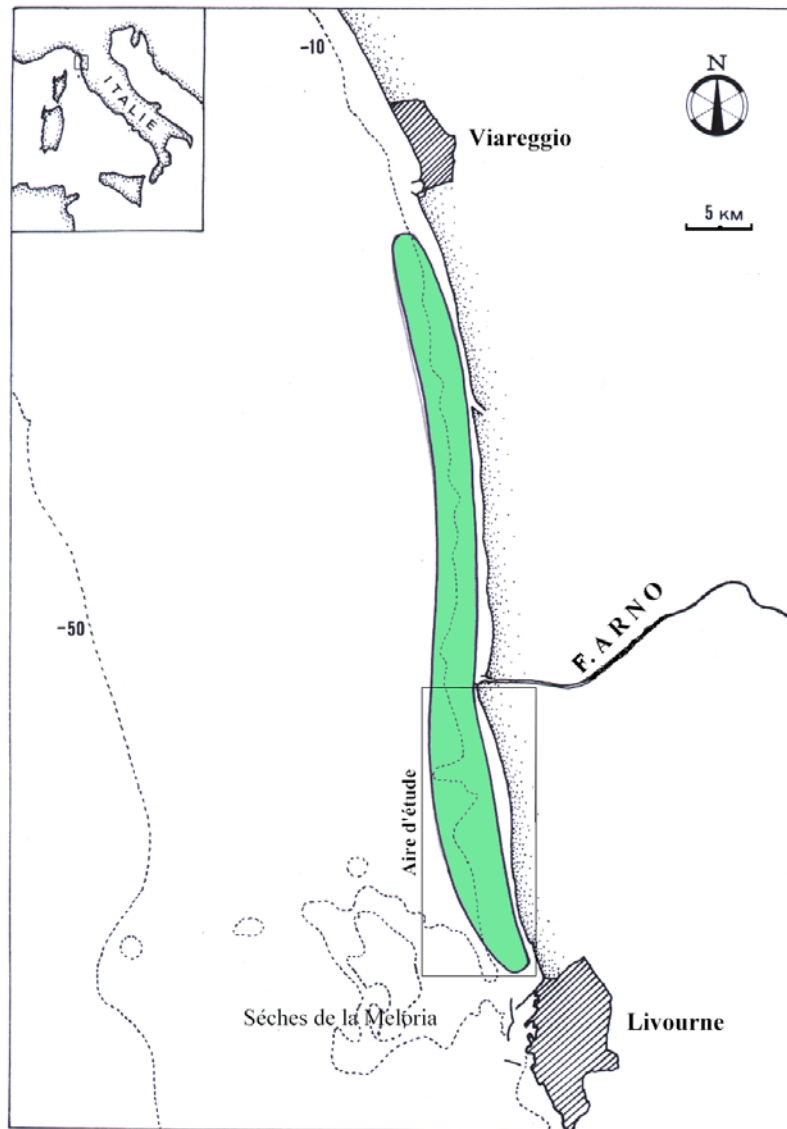


Figure 1. Répartition de *Caulerpa racemosa* au nord de Livourne et dans l'aire d'étude.

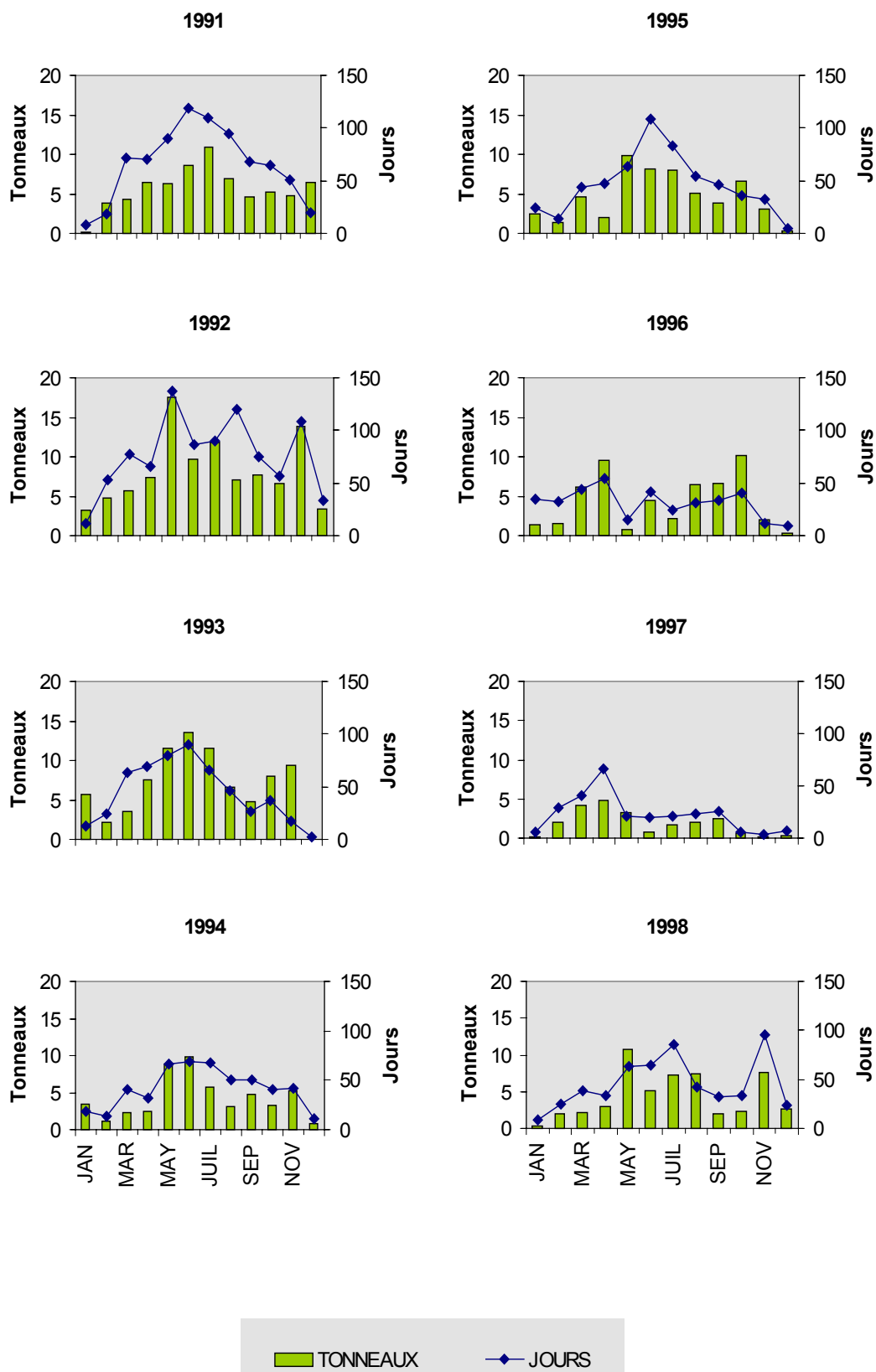


Figure 2. Série historique des captures et jours de pêche dans l'aire d'étude.

Le dommage causé à la pêche par *Caulerpa racemosa* est surtout lié à la grande quantité de fragments qui s'accrochent aux filets (fig. 5), selon un mécanisme semblable à celui décrit pour *Acrothamnion preissi* et *Caulerpa taxifolia* (VERLAQUE, 1994). L'engorgement des filets a conduit à une fréquentation mineure de la zone par les pêcheurs pendant la période de développement végétatif maximal de l'algue. Ceci pourrait expliquer la diminution des PUE observée en 1997, même si d'autres causes peuvent être considérées.

Avec cette étude nous avons vérifié qu'il y a été une diminution des PUE dans la zone d'étude en même temps que *C. racemosa* a commencé à s'y développer. Des études ultérieures sont toutefois nécessaires pour évaluer le dommage éventuel de *C. racemosa* sur l'activité de pêche et pour quantifier la disponibilité des stocks dans la zone intéressée par la présence de l'algue.

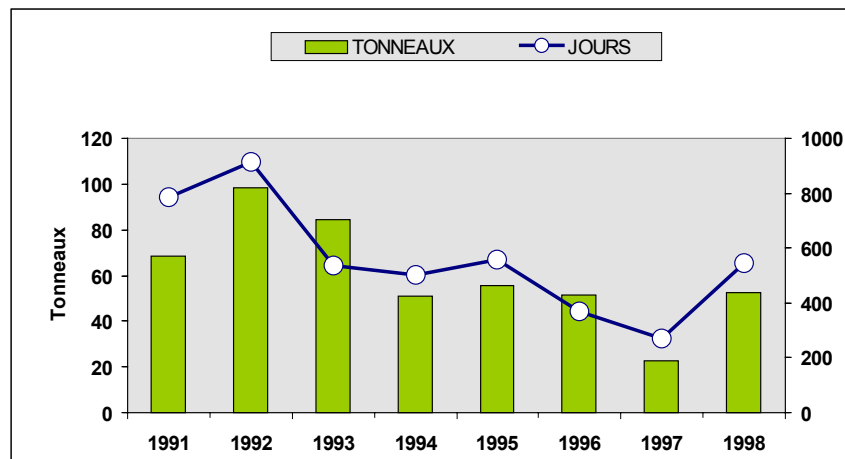


Figure 3. Captures annuelles et jours total de pêche dans l'aire d'étude.

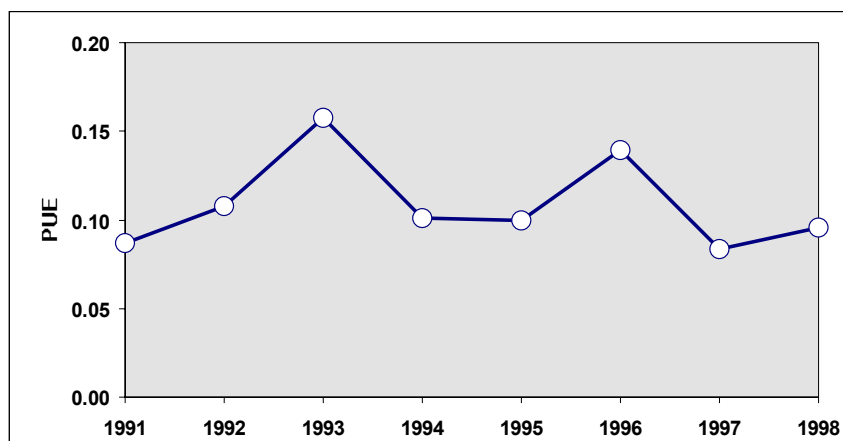


Figure 4. Prises par unité d'effort (t. d⁻¹) dans l'aire d'étude.



Figure 5. Nettoyage des filets engorgés par *Caulerpa racemosa*.

Remerciements : Nous remercions la Cooperativa Santa Maria Assunta de Livourne pour leur collaboration.

BIBLIOGRAPHIE

AIROLDI L., RINDI F., CINELLI F., 1994. Structure of a subtidal algal assemblage dominated by *Polysiphonia setacea* Hollenberg in Western Mediterranean. *Giorn. Bot. Ital.* 128 : 782-783.

CINELLI F., SALGHETTI U., SERENA F., 1984. Nota sull'areale di *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston nell'Alto Tirreno. *Quad. Mus. Storia Nat. Livourne* 5 : 57-60.

DE BIASI A.M., GAI F., VANNUCCI A., 1998. Biologia delle Secche della Meloria: Nuove considerazioni sull'ecologia di *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh. *Biol. Mar. Medit.* (in press).

GASPARINI G.P., MARRI P., ROSSI G., DELL'AMICO F., 1986. Il sistema marino costiero livornese : caratteristiche delle masse d'acqua. In: *Atti del I Convegno sullo stato dell'ambiente a Livourne* : 167-168.

PIAZZI L., BALATA D., CINELLI F., 1999. Mapping as a tool to monitor the spread of the introduced green alga *Caulerpa racemosa* in north western Mediterranean. *Proceedings of the 5° International Conference on the ecology of invasive alien plants, La Maddalena* : 91.

PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997. Expansion de l'algue tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) le long de côtes toscane (Italie). *Cryptogamie, Algologie* 18 (4) : 343-350.

PIAZZI L., CINELLI F., 1999. Développement et dynamique saisonnière d'un peuplement méditerranéen de l'algue tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh. *Cryptogamie, Algologie* 20 : 295-300.

VERLAQUE M., 1989. Contribution à la flore des algues marines de Méditerranée: espèces rares ou nouvelles pour les côtes françaises. *Bot. Mar.* 32 : 101-113.

VERLAQUE M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanologica Acta* 17 (1) : 1-23.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanologica acta* 17 (6) : 659-672.

DESCRIPTION DES PEUPELEMENTS À *CAULERPA TAXIFOLIA* ET À *CAULERPA RACEMOSA* À CALAFURIA (LIVORNO, ITALIE)

Luigi PIAZZI, Giulia CECCHERELLI, David BALATA & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa - Via A. Volta 6, 56126
Pisa, Italie

ABSTRACT

Since 1996, the two tropical seaweeds Bryopsidophyceae *Caulerpa taxifolia* and *Caulerpa racemosa* have occurred along the Tuscan coast in the same area, south of Livorno. The present study has been carried out to evaluate the growth and monitor the expansion of patches of both species. The cartographic survey done in July 1998 estimated the area colonised by *C. taxifolia* and by *C. racemosa* respectively as 40 m² and 1100 m². Although stolon elongation was similar for the two species, the increase in the number of stolons from July to October 1998 was significantly greater for *C. racemosa*. These results suggest that the two species are likely to use different competitive strategies and that their impact can be dependent on adaptation of the benthic organisms.

RÉSUMÉ

Depuis 1996, les deux Bryopsidophyceae tropicales *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa racemosa* colonisent la même zone le long des côtes toscanes, au sud de la ville de Livourne. Des études ont été menées pour observer l'expansion des deux espèces et pour évaluer leur accroissement. En juillet 1998 une cartographie de l'aire a montré que les surfaces colonisées par *C. taxifolia* et par *C. racemosa* étaient respectivement de 40 m² et de 1100 m². L'augmentation du nombre de stolons entre juillet et octobre 1998 a été significativement supérieure pour *C. racemosa*, alors que l'allongement des stolons a été équivalent pour les deux espèces. Ces résultats font penser que les deux Caulerpacées ne présentent pas les mêmes mécanismes de compétition et que l'effet de leur envahissement peut être différent par rapport à la stratégie d'adaptation des organismes benthiques.

INTRODUCTION

La propagation des Caulerpacées en Méditerranée occidentale représente un problème dont l'ampleur est devenue considérable (VERLAQUE, 1994 ; RIBERA & BOUDOURESQUE, 1995). *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh, probablement entrée en Méditerranée à la suite de l'ouverture du Canal de Suez (LIPKIN, 1972), est restée pendant des années confinée dans le bassin oriental et n'a commencé à coloniser la Méditerranée occidentale que depuis cinq ans (PIAZZI *et al.*, 1994). *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh, apparue sur les côtes monégasques dans la première moitié des années 80, s'est ensuite propagée le long des côtes françaises, espagnoles et italiennes (VERLAQUE, 1994). Depuis 1996, les deux espèces colonisent la même zone le long de la côte toscane. Ce travail a pour but la cartographie d'une aire où les deux espèces cohabitent, ainsi que l'évaluation de leur accroissement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été menée en été 1998 le long de la côte toscane au sud de la ville de Livourne (fig. 1). La cartographie de l'aire a été effectuée au moyen de transects perpendiculaires et parallèles à la côte. Des plongeurs ont parcouru les profils en relevant les principales biocénoses benthiques et en mesurant les surfaces colonisées par les *Caulerpaceae*. En juillet 1998, des balises ont été placées à la limite de trois taches de *Caulerpa racemosa* et trois taches de *Caulerpa taxifolia*. En outre, trois stolons de *C. taxifolia* implantés à l'intérieur des taches de *C. racemosa* ont été marqués. Pendant trois mois entre juillet 1998 et octobre 1998 l'allongement des stolons a été mesuré à proximité des balises ; le nombre de stolons est mesuré entre deux balises placées à une distance de 20 cm l'une de l'autre. Les données ont été analysées au moyen d'une analyse de variances à deux facteurs (ANOVA). L'homogénéité de variances a été évaluée par le test de Cochran.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'aire cartographiée présente une profondeur variant de 0 à 15 m. Le fond est en grande partie rocheux, avec de petites zones de sable ou de cailloux. Le substrat rocheux est colonisé par un peuplement d'algues photophiles et de taches de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. En juillet 1998, les surfaces couvertes par *Caulerpa taxifolia* et *C. racemosa* ont été respectivement estimées à 40 m² et 1100 m² (fig. 1).

Entre juillet et octobre 1998, l'accroissement des stolons a été de 60.8 ± 7.4 cm pour *C. taxifolia* et de 119.3 ± 12.0 cm pour *C. racemosa* (fig. 2a). L'augmentation (en pourcentage) du nombre de stolons a été de 3.7 ± 0.2 pour *C. taxifolia* et de 28.8 ± 5.0 pour *C. racemosa* (fig. 2b). L'analyse de variance a montré une augmentation du nombre de stolons significativement plus grande pour *C. racemosa* ($F_{1,1} = 281.5$, $p = 0.038$), alors que les valeurs d'accroissement des stolons ont été semblables pour les deux espèces ($F_{1,1} = 43.8$, $p = 0.095$), nonobstant une forte hétérogénéité sur une petite échelle. Les stolons de *C. taxifolia* mesurés dans les taches de *C. racemosa* ont présenté des valeurs d'allongement inférieures (15.0 ± 5.1 cm) par rapport aux stolons implantés sur le substrat rocheux sans *C. racemosa*.

La présence simultanée de *C. taxifolia* et de *C. racemosa* au même endroit a permis d'évaluer la capacité de développement des deux espèces. Les deux *Caulerpaceae* ont été observées pour la première fois dans l'aire d'étude en 1996. Deux ans après de début de l'envahissement, la surface occupée par *C. taxifolia* est apparue plus réduite que celle occupée par *C. racemosa*, ce qui montre une capacité de propagation supérieure chez *C. racemosa*.

Les différences observées dans l'augmentation du nombre de stolons font penser que les deux *Caulerpaceae* ne présentent pas les mêmes mécanismes de compétition et que l'effet de leur envahissement peut être différent par rapport à la stratégie d'adaptation des organismes benthiques. La capacité de *C. taxifolia* de se développer en hauteur lui permet de rivaliser facilement avec les espèces gazonnantes aussi bien qu'avec les espèces dressées, comme cela a été décrit pour le cas d'interaction avec la phanérogame

marine *Posidonia oceanica* (VILLÈLE & VERLAQUE, 1995). *Caulerpa racemosa*, au contraire, se développe peu en hauteur mais augmente rapidement les ramifications des stolons jusqu'à constituer une couche très épaisse qui rentre en compétition surtout avec les espèces gazonnantes. Apparemment, les effets de la compétition ne se manifestent pas aux premiers stades de colonisation sur les espèces dressées.

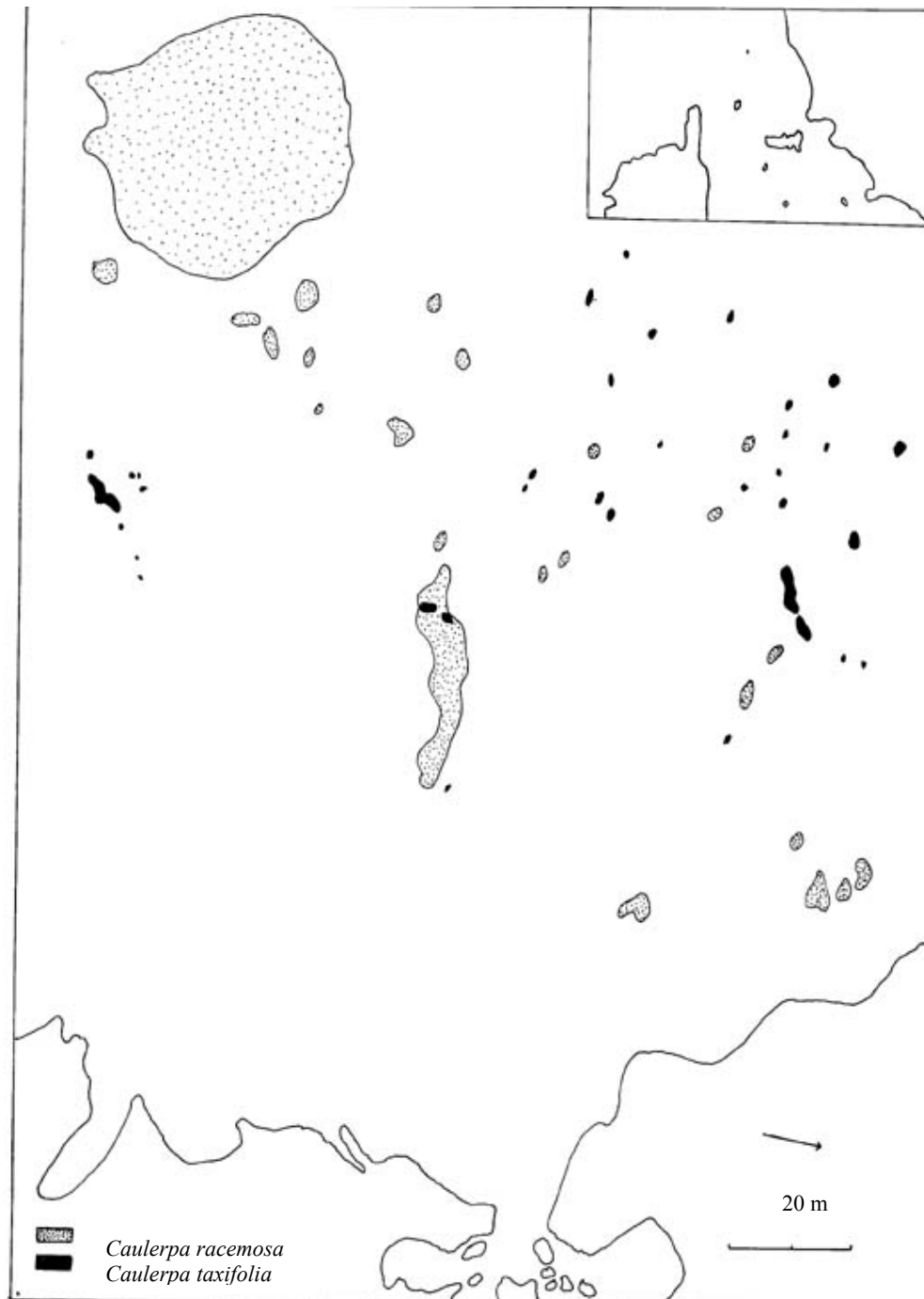


Figure 1. Cartographie de l'aire d'étude.

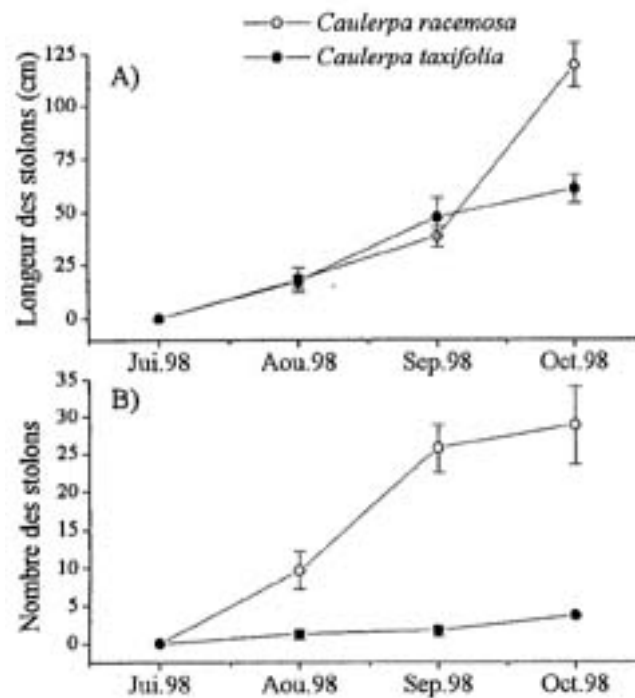


Figure 2. Allongement (A) et nombre (B) de stolons de *Caulerpa racemosa* et de *Caulerpa taxifolia*.

Au moment où les deux espèces ont été en contact, *Caulerpa taxifolia* a réussi facilement à s'accroître sur *C. racemosa*. Par la suite, les stolons de *C. racemosa* ont couvert ceux de *C. taxifolia* qui a alors commencé à montrer des signes d'altération.

La poursuite des études pourra permettre de vérifier ces observations préliminaires et de mieux évaluer les mécanismes de compétition des deux Caulerpacées.

BIBLIOGRAPHIE

- LIPKIN Y., 1972. Marine algal and seagrass flora of the Suez Canal. *Israel J. Zool.* 21 : 405-446.
- PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie, Algol.* 15 : 183-189.
- RIBERA M., BOUDOURESQUE C.F., 1995. Introduced marine plants, with special reference to macroalgae : mechanisms and impact. *Progress in phycological Research*. Round F.E., Chapman D.J. eds. Biopress Ltd publ., 11 : 187-268.
- VERLAQUE, M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanol. Acta* 17 (1) : 1-23.
- VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE FIRST SETTLEMENT OF *CAULERPA RACEMOSA* IN THE GULF OF GENOA (NORTH WESTERN MEDITERRANEAN)

Giorgio MATRICARDI & F. PIATTI

*Università di Genova; Dipartimento di Biologia Sperimentale Ambientale ed Applicata ; Viale
Benedetto XV, 5 - 16132 Genova, Italy*

ABSTRACT

The morphological features of *Caulerpa racemosa* in the Gulf of Genoa are discussed. The morphological measures of the algae show high variability according to seasonal changes. This confirms the high morphological plasticity of the species. *C. racemosa* seems to also tolerate variations in the local environmental conditions.

RÉSUMÉ

Les caractéristiques morphologiques de *Caulerpa racemosa* dans le Golfe de Gênes sont discutées. Les mesures morphologiques de l'algue montrent une grande variabilité en fonction des variations saisonnières. Ceci confirme la grande plasticité morphologique de cette espèce. *C. racemosa* semble également tolérer les variations environnementales locales.

INTRODUCTION

After its first observation along the coasts of the eastern basin of the Mediterranean Sea (HAMEL, 1930), *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh has gradually spread as far as the western regions, reaching Tunisia (HAMEL, 1926), the Greek coasts (PANAYOTIDIS & MONTESANTO, 1994) the south Italian coasts (ALONGI *et al.*, 1993), the Tyrrhenian Sea (PIAZZI *et al.*, 1994) and the Ligurian Sea (BUSSOTTI *et al.*, 1996). The Gulf of Genoa (9°0.7.0' E - 44°23.1' N) is the northern limit of the expansion of *C. racemosa*. It was observed for the first time in October 1995. The alga covered about 4 m² of the bottom, on hard substrate at 9 m depth in December 1995. It occurred in an environment characterised by organic wastes; the *Posidonia oceanica* (L.) Delile meadow, which is present in the neighbouring, shows evident traces of upper limit regression related to domestic pollution (BALDUZZI *et al.*, 1984) and to terrigenous discharges.

MATERIAL AND METHODS

The main morphological aspects of this algae have been monitored in the Ligurian site, during one year, to support the ecological research on this invasive species, that has not been not intensively studied in the Mediterranean Sea. A seasonal sampling plan has

been undertaken, beginning from December 1995; the samples have been collected by SCUBA diving, on a sub-horizontal substrate; about 10 stolons (or portions of a mean length of 20 cm) have been randomly chosen in the central part of the settlement. The morphological measures collected are: the diameter of the stolons, the distance between the erect axes, the length of the erect axes, the number of branchlets per erect axis, the length of the branchlets and the distance between the rhizoids. The linear measures have been obtained by fibreglass dial, under dissection microscope; figures are expressed in mm.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean seasonal value of the measures is reported in Table I.

Table I. Mean seasonal values (mm) of the morphological characters of *Caulerpa racemosa* in the Gulf of Genoa. In parenthesis: standard deviations.

	December 1995	March 1996	June 1996	August 1996	September 1996
Stolon diameter	1.46 (0.33)	2.10 (1.60)	1.52 (0.25)	1.84 (0.83)	1.66 (0.35)
Distance between erect axes	9.26 (5.87)	7.54 (5.52)	13.12 (4.46)	17.20 (15.36)	11.15 (10.12)
Length of erect axes	11.76 (6.71)	7.87 (4.91)	10.45 (3.85)	9.82 (5.66)	11.49 (6.13)
number of branchlets per axis	2.76 (1.05)	2.48 (2.14)	2.52 (1.26)	1.98 (0.81)	2.13 (1.01)
Length of branchlets	1.39 (0.34)	2.75 (2.41)	2.13 (1.50)	3.41 (1.14)	3.74 (2.71)
Distance between rhizoids	15.49 (5.83)	n.d.	7.54 (0.24)	9.84 (3.84)	8.24 (3.78)

The morphological measurements of the Ligurian samples of *C. racemosa* are comparable with the figures reported by PIAZZI *et al.* (1994) for samples from the higher Tyrrhenian Sea and by ALEEM (1948) for samples from Egypt, giving the specimens from Genoa a resemblance to *C. racemosa* var. *clavifera* (SARTONI, 1978). The differences observed in the thalli's mean dimensions between October (data not in the seasonal samples; maximum length of the thalli: 9 cm) and December 1995, and the high variability of the seasonal figures (shown by the high values of standard deviations) confirm the high morphological plasticity of the species.

Seasonal trends in the figures of the distance between the erect axes and of the length of the erect axes need to be tested by extending the sampling design. Direct or inverse relationships with the surface temperature gradient of the Ligurian Sea (tab. II; CATTANEO VIETTI, 1985) could reveal a particular growth strategy of the algae in the north-west part of the Mediterranean Sea.

Table II. Mean surface temperature of the Ligurian Sea (° C) (from CATTANEO VIETTI, 1985).

December	January	February	March	April	May	June	July	August	September
14.5	13.0	12.5	12.9	13.9	16.0	20.0	23.0	23.2	21.5

In table III are reported the summary statistics of the morphological characters of the algae in the whole sample from the Ligurian Sea.

Table III. Summary statistics of the morphological characters of *Caulerpa racemosa* in the Gulf of Genoa

	n		s.d.	Min	Max
Length of erect axes (mm)	264	9.67	5.58	1.04	34.10
Distance between erect axes (mm)	141	11.02	9.86	0.60	57.50
Number of branchlets/axis	232	2.34	1.54	1.00	13.00
Length of branchlets (mm)	527		1.99	1.02	21.50
Diameter of vesiculae	350	2.21	1.56	0.63	5.03
Diameter of stolons (mm)	360	1.76	0.92	1.01	9.82
Distance between rhizoids (mm)	220	9.57	4.08	2.43	30.02

The data reported confirm that *Caulerpa racemosa* seems to tolerate the local environmental conditions; during 1996, patches of the alga were observed to extend westwards between 5 and 10 m depth, on hard substrate. Further researches are needed to monitor the spread of this alga along the coasts of the Ligurian Sea.

REFERENCES

- ALEEM A.A., 1948. The recent migration of certain indopacific algae from the Red Sea into the Mediterranean. *New Phytol.* 47 : 88-94.
- ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Accad. Gioena Sci. Nat.* 342 : 49-53.
- BALDUZZI A., BAVESTRELLO G., BELLONI S., BOERO F., CATTANEO R., PANSINI M., PRONZATO R., 1984. Valutazione dello stato di alcune praterie di posidonia del Mar Ligure sottoposte a diverse condizioni di inquinamento. *International Workshop on Posidonia oceanica beds*. Boudouresque C.F., Jeudy De Grissac A., Olivier J. eds., GIS Posidonie publ., France : 73-78.
- BUSSOTTI S., CONTI M., GUIDETTI P., MARTINIO F., MATRICARDI G., 1996. First record of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh along the coast of Genoa (north-western Mediterranean). *Doriana* 6 (294) : 1-5.
- CATTANEO VIETTI R., 1985. Mar Ligure, caratteristiche ambientali. *La pesca in Liguria*. Cattaneo Vietti R. Ed. Centro Studi Unioncamere Liguri publ., Italy : 17-42.
- HAMEL G., 1926. Quelques algues rares ou nouvelles pour la flore méditerranéenne. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, France 6 : 420.
- HAMEL G., 1930. Les Caulerpes méditerranéennes. *Rev. Algol.* 5 : 229-230.
- PANAYOTIDIS P., MONTESANTO B., 1994. *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) on the Greek coasts. *Cryptogamie, Algol.* 15 (2) : 159-161.
- PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the north-western Mediterranean. *Cryptogamie, Algol.* 15 (3) : 183-189.
- SARTONI G., 1978. Ricerche sulla flora algale della Somalia centro-meridionale. 1.- Il genere *Caulerpa*. *Webbia* 32 (2) : 397-416.

COLONIZATION OF *CAULERPA RACEMOSA* ALONG THE SOUTHERN ITALIAN COAST : I. DISTRIBUTION, PHENOLOGICAL VARIABILITY AND ECOLOGICAL ROLE

M.C. BUIA, M.C. GAMBI, A. TERLIZZI & L. MAZZELLA †

Laboratorio di Ecologia del Benthos, Stazione Zoologica "A. Dohrn", Punta San Pietro, 80077 Ischia (Napoli), Italy

Key words: *Caulerpa racemosa*, seaweeds, introduced species, distribution, phenological variability, Tyrrhenian Sea, Ionian Sea, Mediterranean Sea.

ABSTRACT

Observations on the distribution, ecology and phenological variability of *Caulerpa racemosa* are reported for four populations off the Southern Italian coasts, collected in late spring 1997 and 1998: Gulf of Naples (Miseno), Gulf of Salerno (Salerno town and Amalfi peninsula) and Gulf of Taranto (Ionian Sea). Each of the four populations showed a different depth distribution (from 1 m to about 20 m) and substrate of colonization (fine sand, rocky bottom and dead 'matte' of *Posidonia oceanica*). As regards the phenology, the analysis of various morphological parameters (length of erect axes and of lateral branchlets, thickness of the stolons and diameter of the terminal vesicles), showed significant differences between all populations. These data confirm the wide ecological distribution and high phenological variability of this species. A seasonal analysis of the more extensive population off the Gulf of Salerno, at 15 m depth, revealed a high seasonality in bottom coverage, density and standing crop, with maxima in September-November, and minima in February-May. The ecological role of *C. racemosa* has been evaluated in the same area, where the colonization of this alga on the bare sandy bottom may have a strong impact in increasing space, food and microhabitat availability for the benthic organisms. In fact, 42 different species of molluscs (25 gastropods and 17 bivalves) have been identified in the area, most of which present juvenile stages and characteristics of other plant systems (e.g. *Cymodocea nodosa* meadows).

RÉSUMÉ

La variabilité de la distribution, de l'écologie et de la phénologie de *Caulerpa racemosa* est étudiée pour quatre populations des côtes du sud de l'Italie, récoltées au printemps 1997 et en 1998 : Golfe de Naples (Miseno), Golfe de Salerno (ville de Salerno et péninsule Amalfi) et Golfe de Taranto (Mer Ionienne). Chacune des quatre populations montre une distribution bathymétrique différente (de 1 m à 20 m) et des substrats colonisés différents (sables fins, fonds rocheux et matras morte de *Posidonia oceanica*). En ce qui concerne la phénologie, les paramètres morphologiques (longueur des axes dressés et de ramifications secondaires, épaisseur des stolons et diamètre des vésicules terminales) montrent des différences significatives entre toutes les populations. Ces données confirment la large distribution et la forte variabilité phénologique de cette espèce. L'analyse saisonnière de la population la plus étendue, celle du Golfe de Salerno à 15 m de profondeur, révèle une forte variation saisonnière de la couverture du fond, de la densité et de la biomasse, avec des maximums de septembre à

novembre et des minimums de février à mai. Le rôle écologique de *C. racemosa* a été évalué dans la même zone, où la colonisation du fond sableux par l'algue peut avoir un rôle important en ce qui concerne l'augmentation de l'espace, et la disponibilité de la nourriture et des microhabitats pour les organismes benthiques. 42 espèces de mollusques (25 gastéropodes et 17 bivalves) ont été identifiées dans cette zone. La plupart de ces espèces présentent les stades juvéniles et sont caractéristiques d'autres écosystèmes (e.g. *Cymodocea nodosa*).

RIASSUNTO

Sono stati confrontati esemplari di *Caulerpa racemosa* da popolazioni raccolte nella primavera 1997 e 1998 in alcune aree dei Golfi di Napoli (Miseno), Salerno (città di Salerno e penisola Amalfitana) e di Taranto (Mar Ionio), a differenti profondità (da 1 m a circa 20 m) ed in diversi substrati di impianto (sabbia fine, roccia e "matte" morta di *Posidonia oceanica*). L'analisi morfometrica di alcuni parametri (lunghezza dei talli e delle ramificazioni laterali, diametro dello stolone e delle vescicole) ha evidenziato differenze significative tra le popolazioni studiate. I risultati confermano l'elevata valenza ecologica di questa specie e la sua alta variabilità fenotipica. La dinamica stagionale, seguita in un prato profondo del Golfo di Salerno, dimostra che l'alga raggiunge il suo massimo sviluppo di copertura del substrato, densità e biomassa nei mesi di settembre-novembre, mentre il minimo si registra tra febbraio e maggio. Nello stesso prato è stato valutato in via preliminare il ruolo ecologico che questa specie svolge nei sistemi costieri sabbiosi, dove incrementa la complessità strutturale e la disponibilità alimentare per la fauna associata. Sono state rinvenute, infatti, 42 specie di molluschi (25 gasteropodi e 17 bivalvi) tra i quali è rilevante la presenza di stadi giovanili e di specie associate anche a fanerogame marine (es., prati a *Cymodocea nodosa*).

INTRODUCTION

Caulerpa racemosa (Forsskål) J. Agardh (Chlorophyceae) is a pantropical seaweed, whose introduction into the Mediterranean was mainly related to the opening of the Suez canal (VERLAQUE, 1994; RIGGIO, 1995). This species was first recorded in the Italian waters in 1993, along the southern coasts of Sicily (ALONGI *et al.*, 1993). Further records of this species were in the Meloria Shoals off Livorno, Tuscany (PIAZZI *et al.*, 1994), in the area near Genoa, Liguria (BUSSOTTI *et al.*, 1996), and near Cagliari, Sardinia (DI MARTINO & GIACCONE, 1995). Recently, we have reported this invasive species from other localities: the Gulf of Salerno (GAMBI & TERLIZZI, 1998) and the Gulf of Taranto (Ionian Sea) (BUIA *et al.*, 1998). The Gulf of Salerno population, in particular, was estimated to cover about 12 km², representing one of the largest populations of *C. racemosa* occurring in Italy (GAMBI & TERLIZZI, 1998). Furthermore, these findings confirm once more the discontinuous distribution of *C. racemosa* along the Italian coasts.

This species shows a high phenotypical variability (morphotypes) that has been related to changes in some environmental factors, mainly light and temperature (OHBA & ENOMOTO, 1987), and that was also documented along the Italian coasts (ALONGI *et al.*, 1993).

The aim of this paper is to compare the distribution, ecology, and phenology of four populations of *C. racemosa* off the southern Italian coasts, in order to give further evidence of the eco- and morphological plasticity of this seaweed, and to better understand its poorly known mechanisms of dispersion, at medium and large scale. Since very little is known on the significance of the introduction of *C. racemosa* for the composition and structure of the local benthic communities (PANDOLFO & CHEMELLO, 1995), another aim of this study was to provide a preliminary analysis of the associated fauna.

MATERIAL AND METHODS

The four populations of *Caulerpa racemosa* studied were located in the Gulf of Naples (Miseno), in the Gulf of Salerno (two sites), and in the Gulf of Taranto (Ionian Sea). All samples have been collected by SCUBA diving in late spring (April-May) 1997 and 1998.

For each population some phenological parameters have been measured on 50 randomly chosen thalli; they include the thickness of the horizontal stolons (1), the length of the erect axes (2) and of the lateral branchlets (3), the diameter of the terminal vesicles of the branchlets (4) (table 1). The data have been compared with the Kruskal-Wallis One Way Analysis. The size-structure of each population was studied by measuring the length of the erect axes of a number of thalli varying from 64 to 200.

Due to the extensive character of the *Caulerpa racemosa* meadow in the Gulf of Salerno, seasonal sampling has also been performed on this population to evaluate bottom coverage (in percentage), density of erect axes, and standing crop. Samples were collected in February, may, September and November 1997, and in February 1998 at a station at 15 m depth. In addition, in order to evaluate the ecological role of this seaweed species for the benthic community, a preliminary analysis of the associated fauna was conducted in November 1997 and February 1998. Benthic organisms were sampled with an epibenthic dredge (small Sanders dredge), towed for 5 minutes at 1 knot. The material collected was sieved at 400 µm mesh size, preserved in 4 % formaldehyde and sorted. In this paper only the mollusc component is considered.

RESULTS AND DISCUSSION

Distribution and ecology

At Miseno harbour, Gulf of Naples, a shallow population of *Caulerpa racemosa* was observed and sampled in May 1998. In this area the species was also observed in summer 1997 (VILLANI pers. comm.). Various dense patches of *C. racemosa* are present on rocky bottoms from 2 m to 7 m depth, mixed with a typical photophilous, moderately exposed algal community. *C. racemosa* covered the other algal species with a dense net of its horizontal stolons, and forming a "turf" about 5-6 cm thick.

In the Gulf of Salerno, *Caulerpa racemosa* occurs at different sites, two of which documented and sampled by us: off the town of Salerno and at Erchie near Cetara, in the Amalfi peninsula. The population off Salerno is very large and almost continuous, and it is distributed from about 13 m to about 20 m depth on a sandy (fine sand) bottom, often mixed with sparse *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. shoots, and scarce thalli of *Caulerpa prolifera* (Forssk.) Lamouroux. The area colonized by *C. racemosa* has been estimated in a belt with a surface area of about 12 km² (GAMBI & TERLIZZI, 1998). This wide expanse can be related to local fishery activities (trawling) in the Gulf of Salerno that favour the spreading of the algal meadow. A meadow of *C. racemosa* of comparable size was reported from the Meloria Shoals (Livorno) (PIAZZI *et al.*, 1997).

At Erchie a small patch of *Caulerpa racemosa* (of about 1.5-2 m²) has been observed (April 1998) on a dead “matte” of *Posidonia oceanica* (L.) Delile at 1 m depth (LORENTI & RANDO pers. comm.). Other records of this seaweed (summer 1998) are reported from the northern part of the Amalfi peninsula at Praiano (from 3 to 8 m depth), mixed with photophilous algae on pebbles, and on the small island “Gallo lungo”, off the town of Positano, at 10-12 m depth, on large boulders and on the interspersed pebbles and sand (SANDULLI pers. comm.).

In the Gulf of Taranto, near Cheradi Islands, the first specimens of *Caulerpa racemosa* were recorded in 1996 (autumn) at 6 and 9 m depth (BUIA *et al.*, 1998). The site is characterized by a *Thanato-Posidonietum oceanicae* association, with 130 cm high dead ‘matte’ on which rare and small patches of *C. racemosa* and *C. prolifera* were observed. The two congeneric algal species were never mixed. An increase of the size of *C. racemosa* patches was observed from October (100 cm²) to May (1600 cm²). Two other relatively extensive populations of this seaweed were observed along the Ionian Apulian coasts, near Gallipoli (Lecce): one at about 20 m depth in summer 1997 (BIANCHI & MORRI, pers. comm.), the other at 12 m depth in summer 1998 (DE CASTRO P. & DE CASTRO C., pers. comm.).

On the whole, these observations testify to the rapid expansion of *Caulerpa racemosa* along the Campania and the Apulia coasts.

Phenology and population structure

Morphometric data from the four populations are reported in table 1. Each parameter considered shows significant differences (Kruskal-Wallis One Way Analysis) between the population studied (table 1). Two typical morphotypes can be recognized : the deep population of the Gulf of Salerno, and the shallow one in the Gulf of Taranto. The ecotype from the Gulf of Salerno is very similar to that of specimens found on deep bottoms (40 m) off the island of Lampedusa, Pelagic islands, Sicily (ALONGI *et al.*, 1993). A typical thallus is characterized by a non-ramified erect axis, with vesicle-like branchlets sub-opposite and distichous. The presence of this morphology at relatively shallow depth (15 m) can be related to the fact that in the Gulf of Salerno frequent water turbidity and phytoplankton blooms reduce light penetration. The morphotype from the Gulf of Taranto is characterized by reduced size of stolons, especially if compared with thalli collected by other authors in superficial waters (PIAZZI *et al.*, 1994 ; BUSSOTTI *et al.*, 1996), and by club-shaped, sub-opposite and decussate branchlets. These morphotypes seem to be related to the different local environmental conditions,

especially depth-related variables, such as light and temperature (seasonal thermocline location). Similar morphological responses to these abiotic factors in these algae (*Caulerpa* spp.) have also been documented in experimental cultures (CALVERT, 1976 ; OHBA & ENOMOTO, 1987).

The analysis of population size-structure shows a wide range of size classes (0.5-11 cm) in the population of the Gulf of Naples (fig. 1). The two other shallow populations (Erbie and Taranto) show a more limited range of sizes with the dominance of one or two classes. The deep population of the Gulf of Salerno shows the most regular (unimodal) distribution, with at least three equally frequent classes (fig. 1).

Seasonal dynamics

The values of the various parameters measured on a seasonal base in the deep population of the Gulf of Salerno are reported in table 2. All the parameters show minima in winter-spring period (February-May), and maxima in summer-autumn (September-November). In particular, the percentage of coverage varies from 8-10 % in May to 70-80 % in September. The mean density of erect axes varies from 119 axes.m⁻² in May 1997, to about 3900 axes.m⁻² in November. The mean standing crop ranges from 0.6 gdw.m⁻² in May to 15.72 gdw.m⁻² in September (tab. 2). These data testify to the strong seasonal dynamics of the species in this area.

Ecological role

The preliminary analysis of the fauna collected in the Gulf of Salerno is restricted to the malacological component. The list of the species is reported in table 3. A total of 42 species of molluscs have been identified : 25 gastropods and 17 bivalves. Both the numbers of species and individuals are higher in November (38 and 1304, respectively) than in May (21 and 573). This pattern can be related to the dynamics of *Caulerpa racemosa* which showed very high coverage, density and standing crop in autumn (table 2). Most of the species are present in both months with the sole exception of *Calliostoma laugieri*, which occurred only in May. The species richness is comparable to that observed in *Cymodocea nodosa* meadows (TERLIZZI & RUSSO, 1998), while it differs from that previously reported for *C. racemosa* by PANDOLFO & CHEMELLO (1995), where only 14 species of molluscs were observed. These differences may result from the sampling method utilized by these latter authors : an air-lift sampler over a limited surface (1 m²). Most of the gastropod species found are typical of seagrass beds (e.g., the genera *Smaragdia*, *Tricolia*, *Bittium*, *Rissoa*), and considering that the *Cymodocea nodosa* coverage in the area at this depth is very sparse, the occurrence of these species seems related mainly to *C. racemosa*. Present in both seasons are many juveniles of *Tricolia tenuis*, *Bittium latreillii*, *Bolinus brandaris* and *Hexaplex trunculus*, as well as most of the bivalves. The conspicuous occurrence of these juvenile stages suggests that the thalli of *Caulerpa* acts as a "larval trap" for these species.

These preliminary data indicate that in low structured environments, such as the bare sandy bottoms off the Gulf of Salerno, the *Caulerpa racemosa* colonization increases species richness and influences both community composition and structure. The alga seems to have a positive effect on molluscs, by enhancing space and shelter, microhabitat and food availability.

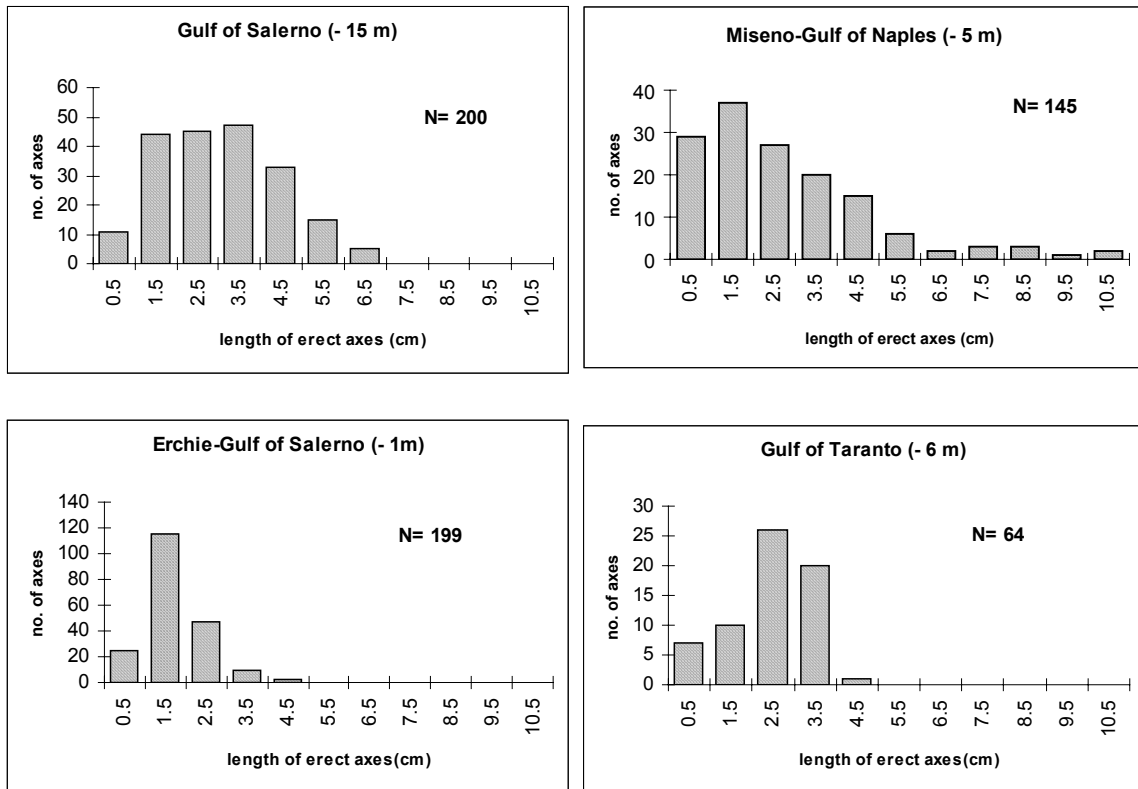


Figure 1. Size-frequency distribution (length of erect axes) of the *Caulerpa racemosa* population studied.

Table 1. Phenology of *Caulerpa racemosa* in the four studied populations (April-May samples). Parameter: 1=thickness of stolons; 2=length of erect axes; 3=length of lateral branchlets; 4=diameter terminal vesicles. N= 50 thalli for each population. Values in mm. S.D.: standard deviation. Values of the Kruskal-Wallis One Way Analysis for each parameter: parameter 1: H= 50.74, P< 0.001; parameter 2: H= 45,00 P< 0.001; parameter 3: H= 51.96, P< 0.001; parameter 4: H= 134.60, P< 0.001.

	Range	Mean	S.D.
Gulf of Salerno -15 m			
Parameter			
1	0.9 - 2.0	1.3	0.3
2	3.9 - 69.0	26.9	12.0
3	1.2 - 5.2	3.3	0.8
4	0.7 - 1.5	1.0	0.2
Gulf of Salerno -1 m			
Parameter			
1	0.8 - 2.1	1.6	0.3
2	6.0 - 33.8	15.5	6.2
3	2.5 - 4.5	3.6	0.5
4	1.1 - 1.8	1.4	0.1
Gulf of Naples -5 m			
Parameter			
1	1.0 - 1.7	1.4	0.2
2	4.8 - 75.5	32.7	17.0
3	2.3 - 5.9	4.2	0.7
4	1.2 - 2.2	1.5	0.2
Gulf of Taranto -6 m			
Parameter			
1	0.1 - 2.5	1.7	0.3
2	6.4 - 41.0	24.5	9.2
3	1.9 - 4.4	3.1	0.7
4	0.7 - 1.2	0.9	0.1

Table 2. Seasonal variability of covering (%), density and standing crop (means and standard deviations) of *Caulerpa racemosa* meadow of the Gulf of Salerno.

year / month	covering	density	standing crop		
	%	number axes.m ⁻²	g d.w. m ⁻²		
		Mean	S.D.	Mean	S.D.
1997					
February	10	119	39	0.6	0.22
May	9	216	48	0.6	0.14
September	75	2248	496	15.7	3.25
November	80	3988	640	15.2	2.92
1998					
February	15	583	148	2.7	0.91

Acknowledgements: We wish to thank LORENTI M. and RANDO V. (Stazione Zoologica, Naples) for collection of the shallow population of *C. racemosa* at Erchie (Gulf of Salerno). Thanks are also due to the following colleagues : SANDULLI R. (Univ. of Bari), VILLANI G. (CNR-Naples), BIANCHI C.N. (ENEA-S.Teresa), MORRI C. (Univ. of Genoa), DE CASTRO P. and DE CASTRO C., for providing further information on *C. racemosa* distribution along the Southern Italian coasts. Prof. P. ARNAUD critically read the manuscript.

REFERENCES

- ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Acc. Gioenia Sci. nat.* Catania, 26 (342) : 49-53.
- BUIA M.C., PETROCELLI A., SARACINO O.D., 1998. *Caulerpa racemosa* spread in the Mediterranean Sea: first record in the Gulf of Taranto. *Biol. Mar. Medit.* 5 (1) : 527-529.
- BUSSOTTI S., CONTI M., GUIDETTI P., MARTINI F., MATRICARDI G., 1996. First record of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh along the coast of Genoa (North-Western Mediterranean). *Doriana* 6 (294) : 1-5.
- CALVERT H.E., 1976. Culture studies on some Florida species of *Caulerpa*: morphological responses to reduced illumination. *Brit. Phycol.* 5 : 203-214.
- DI MARTINO V., GIACCONE G., 1995. La dispersione in Mediterraneo di alghe tropicali del genere *Caulerpa*. *Boll. Acc. Gioenia Sci. nat.* Catania, 28 (349) : 693-705.
- GAMBI M.C., TERLIZZI A. 1998. Record of a large population of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Chlorophyceae) in the Gulf of Salerno (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). *Biol. Mar. Medit.* 5 (1) : 553-556.
- OHBA H. & ENOMOTO S., 1987. Culture studies on *Caulerpa* (Caulerpales Chlorophyceae) II. Morphological variation of *C. racemosa* var *laetevirens* under various culture conditions. *Jap. J. Phycol.* 35 : 178-188.
- PANDOLFO A., CHEMELLO R., 1995. Prime note sulla malacofauna associata a *Caulerpa racemosa* nella Baia di Santa Panagia (Sicilia Orientale). *Biol. Mar. Medit.* 2 (2) : 649-651.

Table 3. List of the mollusc species identified in two seasonal samples (epibenthic dredge) collected at 15 m depth in the *Caulerpa racemosa* meadow of the Gulf of Salerno.

species/individuals	November 1997	February 1998
GASTROPODA		
<i>Smaragdia viridis</i>	8	1
<i>Calliostoma laugieri</i>	-	45
<i>Jujubinus gravinae</i>	2	-
<i>Tricolia tenuis</i>	137	257
<i>Bittium latreillii</i>	600	72
<i>Bittium reticulatum</i>	20	-
<i>Turritella communis</i>	10	1
<i>Rissoa labiosa</i>	10	8
<i>Rissoa monodonta</i>	122	5
<i>Pusillina radiata</i>	53	9
<i>Neverita josephina</i>	6	2
<i>Hexaplex trunculus</i>	3	-
<i>Bolinus brandaris</i> juv.	-	6
<i>Nassarius pygmaeus</i>	149	69
<i>Nassarius mutabilis</i>	6	2
<i>Mitrella scripta</i>	1	2
<i>Bela nebula</i>	10	2
<i>Mangelia attenuata</i>	18	1
<i>Mangelia costulata</i>	5	-
<i>Mangelia unifasciata</i>	8	-
<i>Raphitoma echinata</i>	-	3
<i>Odostomia conoidea</i>	2	-
<i>Turbonilla rufa</i>	5	-
<i>Ringicula conformis</i>	2	-
<i>Acteon tornatilis</i>	1	-
BIVALVIA		
<i>Arca noae</i>	1	-
<i>Musculus costulatus</i>	18	29
<i>Lissopecten hyalinus</i>	1	-
<i>Chlamys varia</i>	3	-
<i>Chlamys proteus</i>	1	-
<i>Anomia ephippium</i>	1	-
<i>Lima lima</i>	-	1
<i>Loripes lacteus</i>	3	-
<i>Lucinella divaricata</i>	2	-
<i>Acanthocardia tuberculata</i>	1	1
<i>Cerastoderma edule</i>	66	1
<i>Maetra corallina</i>	1	-
<i>Spisula subtruncata</i>	5	-
<i>Tellina tenuis</i>	1	-
<i>Donax trunculus</i>	1	1
<i>Gouldia minima</i>	16	-
<i>Corbula gibba</i>	5	-
No. of species	38	21
No. of individuals	1304	573

PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie Algol.* 15 (3) : 183-189.

PIAZZI L., ACUNTO S., MAGRI M., RINDI F., BALESTRI E., 1997. Osservazioni preliminari sull'espansione di *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh lungo le coste livornesi. *Biol. Mar. Medit.* 4 (1) : 426-428.

RIGGIO S., 1995. Il caso delle Caulerpe: immigrazioni recenti e parallelismi con le invasioni di terraferma nell'area mediterranea. *Biol. Mar. Medit.* 2 (2) : 593-605.

TERLIZZI A., RUSSO G.F., 1998. The molluscan taxocoene of differently-exposed *Cymodocea nodosa* beds: year long structural patterns and sampling methods. *First Workshop on marine mollusc communities of the Mediterranean*. Chemello R., Russo G.F. eds. *Bollettino malacologico*, Roma 33 (5-8) : 77-82.

VERLAQUE M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée:origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanol. Acta* 17 (1) : 1-23.

COLONIZATION OF *CAULERPA RACEMOSA* ALONG THE SOUTHERN ITALIAN COASTS: II. FIRST APPROACHES TO THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY

Patrizia FAMÀ, Gabriele PROCACCINI & Lucia MAZZELLA †

Laboratorio di Ecologia del Benthos, Stazione Zoologica 'A. Dohrn', Punta S. Pietro, 80077 Ischia (Napoli), Italy

Key words: *Caulerpa racemosa*, seaweeds, introduced species, Italy, RAPD, ITS1, genetic variability

ABSTRACT

Different morphotypes of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh can be recognized within the populations distributed along the Mediterranean coasts but the relationships between morphological plasticity and genetic variability are still unclear. In order to establish the most suitable molecular approach for population genetic analysis, a preliminary screening by RAPD technique and ITS1 sequences analysis of rDNA cistrons were carried out on individuals sampled along the Italian Tyrrhenian and the Ionian coasts. RAPD results showed high genetic variability within the meadows analyzed, with a clear genetic disjunction between the Northern and the Southern populations, suggesting the existence of a barrier to gene flow. High intra-individual variability of ITS1 sequences was found in *C. racemosa*, suggesting that these regions cannot represent a useful molecular marker for the study of population genetic relationships in this species. Further studies are needed in order to determine the most suitable molecular approach for the comprehension of relationships between phenotypic polymorphism and genetic variability in *C. racemosa*.

RÉSUMÉ

Différents morphotypes de *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh existent parmi les populations distribuées le long des côtes de Méditerranée, mais la relation entre leur plasticité morphologique et leur variabilité génétique n'est pas claire. Afin de mettre en place une approche moléculaire pour l'analyse génétique des populations, une étude préliminaire, par la technique de RAPD et d'analyse des séquences ITS1 des cistrons de l'ADNr a été menée sur des individus échantillonnés sur les côtes italiennes des mers Tyrrhénienne et Ionienne. Les résultats du RAPD montrent une forte variabilité génétique entre les populations étudiées, avec une disjonction génétique claire entre les populations du nord et du sud, suggérant l'existence d'une barrière génétique. Une forte variabilité intra-individuelle des séquences ITS1 existe chez *C. racemosa*. Ces régions ne sont donc pas de bons marqueurs moléculaires pour une étude de génétique des populations chez cette espèce. Des études complémentaires sont nécessaires afin d'établir l'approche moléculaire appropriée pour la compréhension des relations entre le polymorphisme des phénotypes et la variabilité génétique de *C. racemosa*.

RIASSUNTO

Morfotipi differenti di *Caulerpa racemosa* possono essere riconosciuti all'interno dell'areale di distribuzione mediterraneo di questa specie, ma il rapporto fra plasticità fenotipica e variabilità genetica è ancora poco chiaro. Un'analisi preliminare, attraverso l'applicazione della RAPD e le sequenze ITS1 del cistrone del DNA ribosomale, è stata eseguita su individui di *C. racemosa* provenienti dalle coste italiane tirreniche e ioniche, al fine di stabilire la migliore modalità di approccio allo studio della variabilità genetica. I risultati della RAPD hanno evidenziato un'alta variabilità genetica interna alle popolazioni studiate, con una netta divergenza genetica tra le popolazioni settentrionali e meridionali, indicando l'esistenza di una ipotetica barriera che impedisce il flusso genico tra queste località. La sequenza della regione ITS1 è risultata altamente variabile all'interno di uno stesso individuo in questa specie, evidenziando l'impossibilità di utilizzare tale regione come marcatore molecolare utile per uno studio di genetica di popolazione in *C. racemosa*. Sono comunque necessari ulteriori studi per stabilire la corretta modalità di approccio di tipo molecolare per la comprensione dei rapporti tra variabilità fenotipica e variabilità genetica e per determinare la potenziale capacità di diffusione di *Caulerpa racemosa* nel Mar Mediterraneo.

INTRODUCTION

Caulerpa racemosa (Forsskål) J. Agardh, a tropical seaweed widely distributed in the Red Sea (RAYSS, 1941; CIRIK & OZTURK, 1991), is an example of Lessepsian immigration. Records of *C. racemosa* in the Eastern basin of the Mediterranean Sea date back to the beginning of this century. This species has started to colonize the Western basin lately and in the last few years has been recorded along the Western Italian coasts (PIAZZI *et al.*, 1994; DI MARTINO & GIACCONE, 1995; BUSSOTTI *et al.*, 1996; BUIA *et al.*, 1998; GAMBI & TERLIZZI, 1998) up to Marseille, France (JOUSSON *et al.*, 1998; fig.1).

Different morphotypes can be recognized within this species, apparently related to differences in environmental factors, such as light and temperature (CALVERT, 1976; OHBA & ENOMOTO, 1987). The relationships between morphological plasticity and genetic variability in *Caulerpa racemosa* are still unclear. Quantitative genetic studies can be employed to evaluate genetic variability, in order to delineate the genetic vs. environmental components of phenotypic changes. Genetic analysis of different Mediterranean populations of *C. racemosa* will help to clarify (i) if genetic polymorphism underlies morphological heterogeneity; (ii) the clonal structure of natural patches in order to infer the presence / absence of sexual reproduction; (iii) the amount of gene flow among populations from distinct localities. In this regard, the analysis of the amount of within-population genetic variability can enable the prediction of the relative importance of different reproductive strategies on the expansion of this invasive species.

The main objective of this study was to assess the potential usefulness of various molecular techniques in addressing genetic issues in *Caulerpa racemosa*. RAPD technique and ITS1 sequence analysis were experimented as putative molecular approaches. The random amplified polymorphic DNA analysis (RAPD) (WELSH & McCLELLAND, 1990; WILLIAMS *et al.*, 1990), based on the amplification of random

DNA fragments, has been widely used for the estimation of genetic variability within populations and gene flow between populations of algae (for reviews see LYNCH & MILLIGAN, 1994; VAN OPPEN *et al.*, 1996). Internal Transcribed Spacer region (ITS1) of ribosomal DNA cistron, between the 18S and 5.8S genes, showed a level of sequence divergence suitable for analysis at the population-to-species level in green algae (PILLMANN *et al.*, 1997; BLOMSTER *et al.*, 1998; HILLIS *et al.*, 1998; JOUSSON *et al.*, 1998).

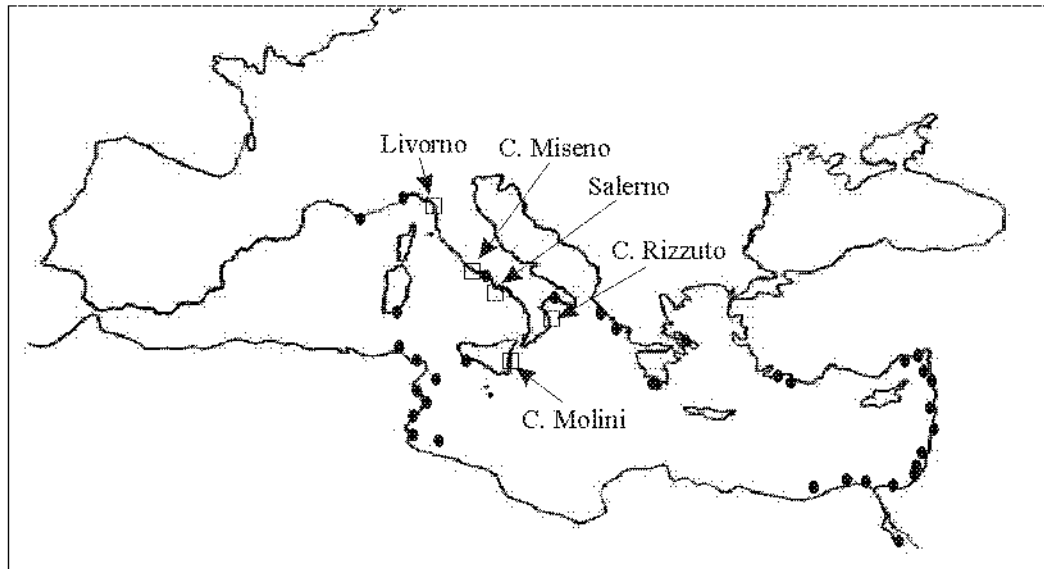


Figure 1. Records of *Caulerpa racemosa* in the Mediterranean Sea (●) and sampling sites (■).

MATERIAL AND METHODS

Sampling

Samples of *Caulerpa racemosa* were collected by SCUBA diving from the following populations: Livorno, Salerno, Miseno Cape, Molini Cape (Tyrrhenian Sea) and Rizzuto Cape (Ionian Sea) (fig.1).

DNA isolation

Algal tissue (0.5 g FW) was ground in liquid nitrogen and DNA was extracted in 4 ml of 2X CTAB buffer (DOYLE & DOYLE, 1987) as in PROCACCINI *et al.* (1996). The method yielded 20-50 µg of DNA per g of tissue.

RAPD analysis

RAPD-PCR was performed in a total volume of 15 µl, as in PROCACCINI *et al.* (1996). The total reaction volume was run on 1.5 % agarose gel, stained with Ethidium Bromide and visualized under UV light. The majority of PCR reactions were replicated to verify the consistency of band amplification and only major bands were considered in the analysis. A preliminary screening of 25 RAPD primers was conducted using a representative selection of samples and only three primers, giving consistent amplifications, were included in the final analysis.

Statistical analysis

A data matrix of presence / absence was constructed for all individuals. Pairwise Dice's similarities were calculated by DISTAN (KLERK *et al.*, unpublished data) computer package, using the formula:

$$S = 2m/n$$

where m represents the number of RAPD markers that are present in both individuals and n represents the number of RAPD markers that are present in the first individual plus the number present in the second individual. 1-Dice's similarity (DICE, 1945), used as genetic distance index, does not take into account the shared absence of bands. Mean within populations genetic distances were calculated by averaging distances of all pairs of individuals in a computational unit.

ITS1 sequence analyses

The whole ITS1-5.8S-ITS2 region was amplified in a Perkin Elmer Cetus DNA Thermal Cycler using the following temperature profile: 5 min 94 °C; 1 min 94 °C; 1 min 55 °C; 2 min 72 °C, for 35 cycles; 7 min 72 °C. The universal primers: ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) and ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) were used for the amplification. Double-stranded PCR fragments were separated on 3 % TAE-agarose gels in presence of Ethidium Bromide. Bands were excised, and the DNA was purified using Gene-Clean purification system. Purified fragments of the ITS1-5.8S-ITS2 region were cloned in plasmids using TOPO-CLONING kit (Stratagene) and ITS1 was sequenced from different positive colonies obtained from the same individual, and run on 6 % acrylamide gels to assess intra-individual variation. ITS1 sequences were compared with *Caulerpa* sequences present in GenBank to verify a correct species assignment.

Statistical analysis

DNA sequences were scored manually and aligned using the computer program CLUSTAL W. Two additional sequences of *Caulerpa racemosa* from Marseille (JOUSSON *et al.*, 1998) and a sequence of *C. mexicana*, used as outgroup, were included in the analysis (Genbank Acc. No. AJ228997, AJ228999 and AJ228996, respectively). Maximum Parsimony (MP) analysis was performed using PHYLIP computer package (FELSENSTEIN, 1993), including bootstrapping (500 replicates).

RESULTS

RAPD analysis

The analysis of the amplification products, obtained from 25 primers, allowed the identification of three primers giving scorable discrete bands. The amplifications, replicated more than one time to exclude possible artefacts, furnished a total of 40 bands. The number of bands for each population varied from 23 to 32 and a total of 7 exclusive bands was found. All multi-primer genotypes turned out to be unique, through the analysis of the multibanded electrophoretical profiles (tab. I).

Dice's similarity analysis suggested the presence of a genetic disjunction between individuals from Livorno and from the Southernmost populations. Within the Southern range, individuals from the same population did not group in the same cluster (fig. 2).

Table I. RAPD data for the five populations analyzed. Data are from the three primers giving unequivocal bands (OPA 3, OPA 5, OPA 8).

Populations	No. of samples	No. of bands	No. of exclusive bands	Identical genotypes
Livorno	8	32	3	0
Miseno Cape	10	32	3	0
Salerno	3	27	0	0
Molini Cape	6	28	1	0
Rizzuto Cape	4	23	0	0

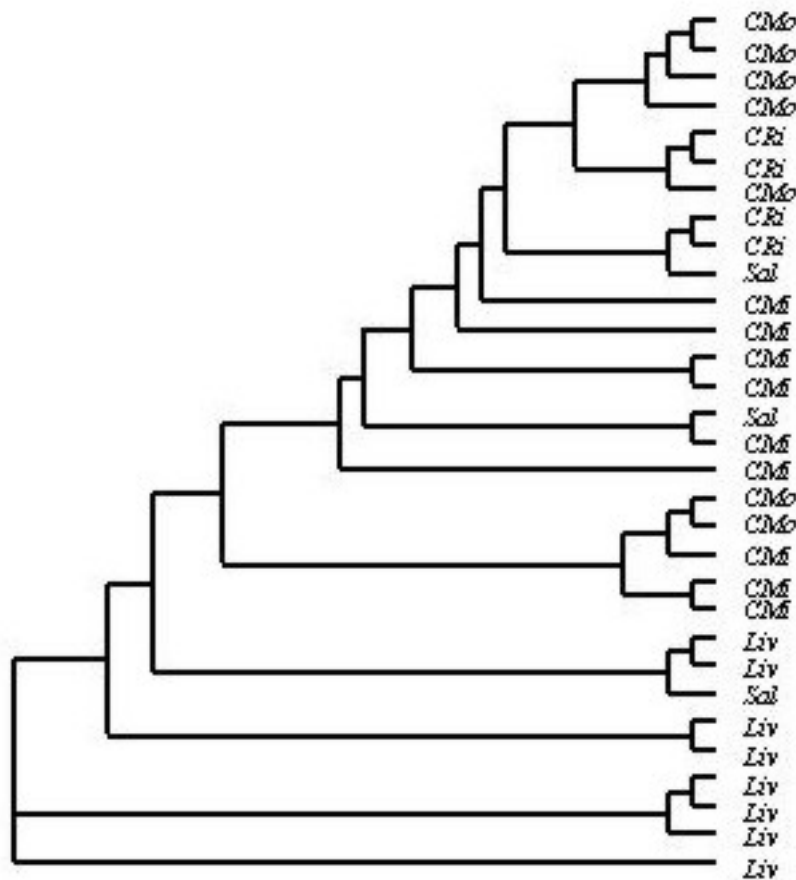


Figure 2. UPGMA tree obtained from distance values (1- Dice's similarity) of RAPD data. Only the individuals from the Northern population (Livorno) group together. *Liv*: Livorno; *Chi*: Miseno Cape; *Sal*: Salerno; *Como*: Molini Cape; *Cry*: Rizzuto Cape.

ITS1 sequence analysis

The length of ITS1 in *Caulerpa racemosa* was found to be highly variable ranging from 107 up to 119 bp long (tab. II). A total of 16 ITS1 sequences were obtained, some of them belonging to the same individual. From the sequence alignment, point mutations and indels up to 12 bases were found both at inter- and intra-individual level. Values of

sequence divergence among all sequences analyzed range between 0 and 12.4 %, with higher values within the same individual than between different individuals collected in distinct locations. ITS1 sequences, for example, diverge for the 12 % within one individual from Livorno, being identical to other sequences from Marseille or from Salerno.

Maximum Parsimony analysis (fig. 3), performed using *Caulerpa mexicana* as outgroup, confirms the indications obtained from the values of sequence divergence. Sequences belonging to the same individual are located on different branches and no correspondence exists between geographic position and the topography of the phylogenetic tree.

Table II. Length of rDNA regions in different *Caulerpa* species.

<i>Caulerpa</i> species	ITS1	ITS2	5.8S	References
<i>Caulerpa filiformis</i>	200	341	153	PILLMANN <i>et al.</i> , 1997
<i>Caulerpa mexicana</i>	131-135	287-289	144	OLSEN <i>et al.</i> , 1998
<i>Caulerpa prolifera</i>	115	342	148	JOUSSON <i>et al.</i> , 1998
<i>Caulerpa racemosa</i>	107-119	285	140	Present study
<i>Caulerpa scalpelliformis</i>	200	341	153	PILLMANN <i>et al.</i> , 1997
<i>Caulerpa taxifolia</i>	99	290	144	OLSEN <i>et al.</i> , 1998

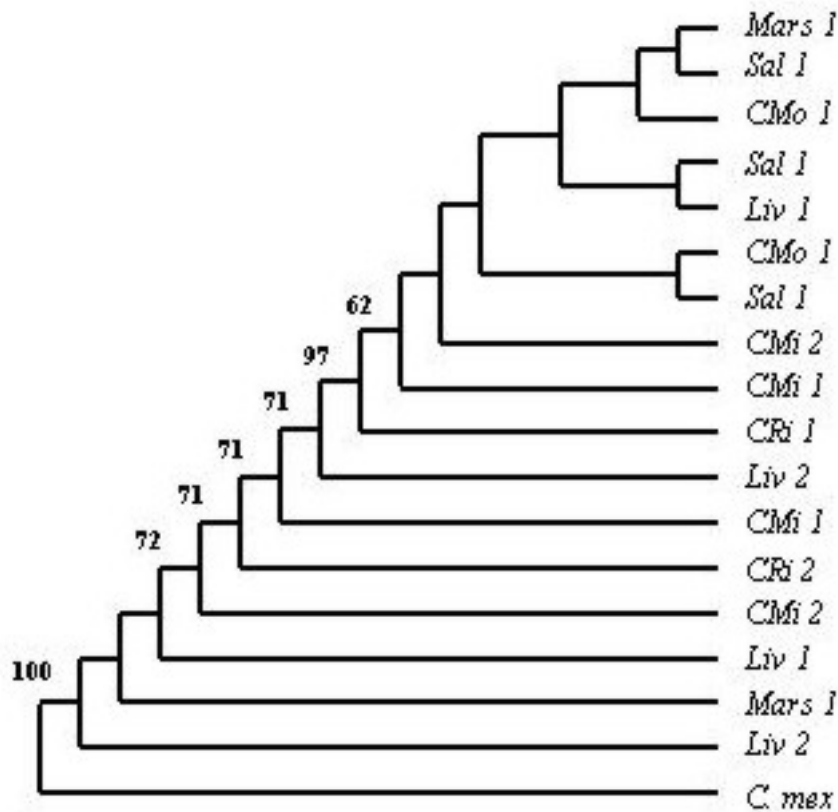


Figure 3. UPGMA tree obtained from sequences of ITS1 regions belonging to different individuals from the populations analyzed. More than one sequence was obtained from some individuals. The same number from the same population refers to different ITS1 sequences from the same individual.

DISCUSSION

The aim of this study was to investigate the usefulness of two categories of molecular markers, RAPDs and ITS1 regions, for analysis of the genetic variability of Mediterranean populations of *Caulerpa racemosa*. The RAPD technique gave reliable but preliminary results, that can suggest patterns of gene flow and genetic variability in the population analyzed. The already suggested intra-individual variability of ITS1 sequences (JOUSSON *et al.*, 1998), on the other hand, opens up the field for a different order of considerations.

Preliminary RAPD results suggest the existence of high genetic variability within the meadows analyzed, although few samples were considered for each population. Although the presence of endosymbiotic bacteria is theoretically possible in *C. racemosa*, the small amount of bacterial DNA, compared to the total algal DNA extracted, should not affect RAPD results (VALATKA *et al.*, 2000). Thus we did not consider this possibility in our analysis.

The distance tree showed a clear disjunction among the genotypes of Livorno and the Southern most ones, as result of the existence of a possible barrier to gene flow. The same genetic distinction was found among north and south Tyrrhenian populations of the seagrass *Posidonia oceanica* (PROCACCINI & MAZZELLA, 1998), indicating that the same factors, such as differences in temperature and/or directions of currents, can act as barriers to free circulation of alleles along the Tyrrhenian coasts, in different species. In this regard, the water circulation along the Tyrrhenian coasts is characterized by a constant current with south-north direction, and by seasonal cells, that could isolate water masses at regional scale, explaining the possible separation between north and south populations of the same species (TAIT, 1984). The untidy cluster found for individuals belonging to the same southern populations instead, could depend on both the small number of samples analyzed and the fast spreading of *C. racemosa* in the southern Tyrrhenian localities (ALONGI *et al.*, 1993; PIAZZI *et al.*, 1994; GAMBI & TERLIZZI, 1998). Populations, in fact, could be too recently established to allow the existence of genetic differences among localities. The fast spreading could be the result of more than one non-contemporary colonization event, and genotypes could be casually dispersed in different populations.

Nucleotide sequences of the Internal Transcribed Spacers of the nuclear ribosomal DNA have been extensively used to infer phylogenetic relationships at species and intra-specific level in algae (COLEMAN & MAI, 1997). PILLMANN *et al.* (1997), comparing ITS sequences of five *Caulerpa* species and nine *C. filiformis* isolates, showed that this regions are useful in sorting out species and biogeographic populations in *Caulerpa* genus. Otherwise, the detection in this study of very different forms of ITS1 sequences within the same individual in *C. racemosa*, does not indicate these regions as suitable molecular markers for the analysis of genetic variability at population level in *C. racemosa*.

ITS1 is part of a multiple copy region, and, as such, evolution should homogenize mutations and genes should evolve together. The process, known as concerted evolution, allows mutations to spread to all members of multicopy regions, usually

resulting in identical sequences (PAGE & HOLMES, 1998). The presence of more than one ITS1 variant within the same individual has been recorded in plants and animals (CAMPBELL *et al.*, 1997; ODORICO & MILLER, 1997) and is probably related to higher mutation than homogenization rate. An additional hypothesis could be formulated considering *Caulerpa racemosa* as a complex of different genetic and morphological ancient forms, with the ability to hybridize and to produce individuals having more than one form of ITS1 of different origin.

In conclusion, our analysis showed that RAPD technique produces interesting results, and is promising for large-scale genetic analysis in *Caulerpa racemosa*. The only problem to be considered is the possible presence of endosymbiotic bacteria, a possible source of foreign DNA in our samples, an issue that will be addressed in future studies. The ITS1 sequence analysis, on the other hand, does not seem to be a suitable approach for assessing phylogeographical trends but can give important insights into the evolution of this algal taxon.

REFERENCES

- ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 26 (342) : 49-53.
- BLOMSTER J., MAGGS C.A., STANHOPE M.J., 1998. Molecular and morphological analysis of *Enteromorpha intestinalis* and *E. compressa* (Chlorophyta) in the British Isles. *J. Phycol.* 34 : 319-340.
- BUIA M.C., PETROCELLI A., SARACINO O.D., 1998. *Caulerpa racemosa* spread in the Mediterranean Sea : first record in the Gulf of Taranto. *Biol. Mar. Mediterranea* 5 (1) : 527-529.
- BUSSOTTI S., CONTI M., GUIDETTI P., MARTINI F., MATRICARDI G., 1996. First record of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh along the coast of Genoa (North-Western Mediterranean). *Doriana* 6 (294) : 1-5.
- CALVERT H.E., 1976. Culture studies on some Florida species of *Caulerpa*: morphological responses to reduced illumination. *Brit. Phycol. J.* 5 : 203-214.
- CAMPBELL C.S., WOJCIECHOWSKI M.F., BALDWIN B.G., LAWRENCE A.A., DONOGHUE M.J., 1997. Persistent nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism in the *Amelanchier* agamic complex (Rosaceae). *Mol. Biol. Evol.* 14 (1) : 81-90.
- CIRIK S., OZTURK B., 1991. Notes sur la présence d'une forme rare de *Caulerpa racemosa* en Méditerranée orientale. *Flora Mediterranea* 1 : 217-219.
- COLEMAN A.W., MAI J.C., 1997. Ribosomal DNA ITS-1 and ITS-2 sequence comparisons as a tool for predicting genetic relatedness. *J. Mol. Evol.* 45 : 168-177.
- DICE J.R., 1945. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology* 26 : 297-302.
- DOYLE J.J., DOYLE J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.* 19 : 11-15.

DI MARTINO V., GIACCONE G., 1995. La dispersione in Mediterraneo di alghe tropicali del genere *Caulerpa*. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 28 (349) : 693-705.

FELSENSTEIN J., 1993. PHYLIP : Phylogeny Inference Package, ver.3.4. *Cladistics* 5 : 164-166.

GAMBI M.C., TERLIZZI A., 1998. Record of a large population of *Caulerpa racemosa* (Forssk.) J. Agardh (Chlorophyceae) in the Gulf of Salerno (Southern Tyrrhenian Sea, Italy). *Biol. Mar. Med.* 5 (1) : 1-10.

HILLIS L.W., ENGMAN J.A., KOOISTRA W.H.C.F., 1998. Morphological and molecular phylogenies of *Halimeda* (Chlorophyta, Bryopsidales) identify three evolutionary lineages. *J. Phycol.* 34 : 669-681.

JOUSSON O., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., MEINESZ A., BOUDOURESQUE C.F., 1998. Molecular evidence for the aquarium origin of the green alga *Caulerpa taxifolia* introduced to the Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Series* 172 : 275-280.

LYNCH M., MILLIGAN B.G., 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* 3 : 91-99.

ODORICO D.M., MILLER D.J., 1997. Variation in the ribosomal internal transcribed spacers and 5.8S rDNA among five species of *Acrofora* (Cnidaria; Scleractinia) : patterns of variation consistent with reticulate evolution. *Mol. Biol. Evol.* 14 (5) : 465-473.

OHBA H., ENOMOTO S., 1987. Culture studies on *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyceae) II. Morphological variation of *C. racemosa* var. *laetevirens* under various culture conditions. *Jap. J. Phycol.* 35 : 178-188.

OLSEN J.L., VALERO M., MEUSNIER I., BOELE-BOS S., STAM W.T., 1998. Mediterranean *Caulerpa taxifolia* and *C. mexicana* (Chlorophyta) are not conspecific. *J. Phycol.* 34 : 850-856.

PAGE R.D.M., HOLMES E.C., 1998. Molecular Evolution. A Phylogenetic Approach. *Blackwell Science*, Oxford, UK.

PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie, Algol.* 15 (3) : 183-189.

PILLMANN A., WOOLCOTT G.W., OLSEN J.L., STAM W.T., KING R.J., 1997. Inter- and intraspecific genetic variation in *Caulerpa* (Chlorophyta) based on nuclear rDNA ITS sequences. *Eur. J. Phycol.* 32 : 379-386.

PROCACCINI G., ALBERTE R.S., MAZZELLA L., 1996. Genetic structure of the seagrass *Posidonia oceanica* in the Western Mediterranean: ecological implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 140 : 153-160.

PROCACCINI G., MAZZELLA L., 1998. Population genetic structure and gene flow in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile assessed using a microsatellite analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 169 : 133-141.

RAYSS T., 1941. Sur les Caulerpes de la Cote Palestinienne. *Pal. Journ. Botany, Jer. Ser II* : 103-124.

TAIT R.T., 1984. The physical oceanography of the Tyrrhenian and Ligurian Seas. *In: Atti VI Convegno A.I.O.L.*, Livorno, 12-14 Aprile 1984.

VALATKA S., MAKINEN A., YLI-MATTILA T., 2000. Analysis of genetic diversity of *Furcellaria lumbricalis* (Gigartinales, Rhodophyta) in the Baltic Sea by RAPD-PCR technique. *Phycologia* 39 (2) : 109-117.

VAN OPPEN M.J.H., KLERK H., DE GRAAF M., STAM W.T., OLSEN J.L., 1996. Assessing the limits of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs) in algal biogeography. *J. Phycol.* 32 : 433-444.

WELSH J., McCLELLAND M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 7213-7218.

WILLIAMS J.G.K., KUBELIK A.E., LEVAK K.J., RAFALSKI J.A., TINGEY S.C., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 : 6531-6535.

EFFET DE *CAULERPA RACEMOSA* SUR LA STRUCTURE DES COMMUNAUTÉS ALGALES BENTHIQUES

Luigi PIAZZI, Giulia CECCHERELLI & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa - Via A. Volta 6, 56126
Pisa, Italie

ABSTRACT

Although *Caulerpa racemosa* shows high invasive ability in the western Mediterranean, its effect on the benthic communities have been not investigated. This study has been carried out at sites along the Tuscan coast and aims to evaluate the effects of the growth of *C. racemosa* on the structure of algal assemblages both on rocky substratum and on dead mat of *Posidonia oceanica*. Preliminary results suggest that, three months after the start of *C. racemosa* colonization, total cover and diversity of algal assemblages decrease in comparison to controls. At the beginning of the colonization, stolons of *C. racemosa* dominate on algae which remained on the substrate while erect species and their epiphytes seemed the most resistant to the algal invasion.

RÉSUMÉ

Caulerpa racemosa a montré un comportement envahissant en Méditerranée occidentale, mais ses effets sur les communautés benthiques n'ont pas encore été étudiés. Une expérience a été menée le long de la côte toscane pour décrire les effets de l'expansion de *C. racemosa* sur la structure des communautés algales colonisant le substrat rocheux et la mat morte de *Posidonia oceanica*. Des résultats préliminaires ont montré que, trois mois après le début de la colonisation par *C. racemosa*, les peuplements algaux présentent une diminution du recouvrement total et de la diversité spécifique significative par rapport aux références et aux mêmes aires avant l'envahissement. Aux premiers stades de colonisation, la couche des stolons de *C. racemosa* endommage surtout les algues de la sous-strate, alors que les espèces dressées et leurs épiphytes montrent une plus grande résistance.

INTRODUCTION

L'introduction d'espèces marines allochtones représente un problème qui au cours de ces dernières années atteint des proportions de plus en plus importantes. Beaucoup d'espèces introduites ont tendance à pulluler, entraînant un bouleversement des écosystèmes marins littoraux. Le développement de *Caulerpa taxifolia* (Valh) C. Agardh, *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston et *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R.E. Norris a abouti à l'élimination des espèces algales autochtones, réduisant la diversité spécifique (VERLAQUE, 1994 ; AIROLDI *et al.*, 1995 ; PIAZZI *et al.*, 1996). Des observations préliminaires ont montré un comportement envahissant de *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh en Méditerranée occidentale (PIAZZI *et al.*, 1997) mais les conséquences de sa colonisation sur les peuplements benthiques n'ont pas été étudiées. Ce travail a pour but la description des effets de l'expansion de *C.*

racemosa sur la structure des communautés algales infralittorales de substrat rocheux et de la matte morte de *Posidonia oceanica* (L.) Delile.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été menée le long de la côte toscane au sud de la ville de Livourne à la profondeur de 2-3 mètres. Deux zones à l'intérieur du secteur d'étude ont été étudiées parallèlement. A l'intérieur de chaque zone deux aires de 0.25 m² sur matte morte et deux aires sur substrat rocheux ont été choisies au hasard à la limite de taches de *Caulerpa racemosa*. En outre, deux aires de référence exemptes de *C. racemosa* sur matte morte et deux aires sur substrat rocheux ont été choisies (fig. 1). En mai 1998, une surface de 400 cm² a été prélevée à l'intérieur de chaque aire. L'échantillonnage a été répété trois mois plus tard à l'intérieur des mêmes aires. Les relevés ont été examinés à la loupe binoculaire et au microscope afin de dresser la liste des taxons. L'abondance de chaque espèce a été estimée par son recouvrement (Ri%). Les paramètres suivants ont été établis pour chaque échantillon : Nombre total (N) et Recouvrement total (Rt%) des espèces algales, indice de diversité de Shannon-Weaver ($H' = \sum Ri/Rt \ln Ri/Rt$). En outre, la dominance quantitative (DR%) des espèces encroûtantes, gazonnantes et arbustives (VERLAQUE & FRITAYRE, 1994) a été calculée pour chaque relevé. Les données ont été analysées au moyen d'une analyse de variance à quatre facteurs (impact, substrat, aire, temps) tous orthogonaux entre eux. L'homogénéité de variances a été vérifiée par le test de Cochran.

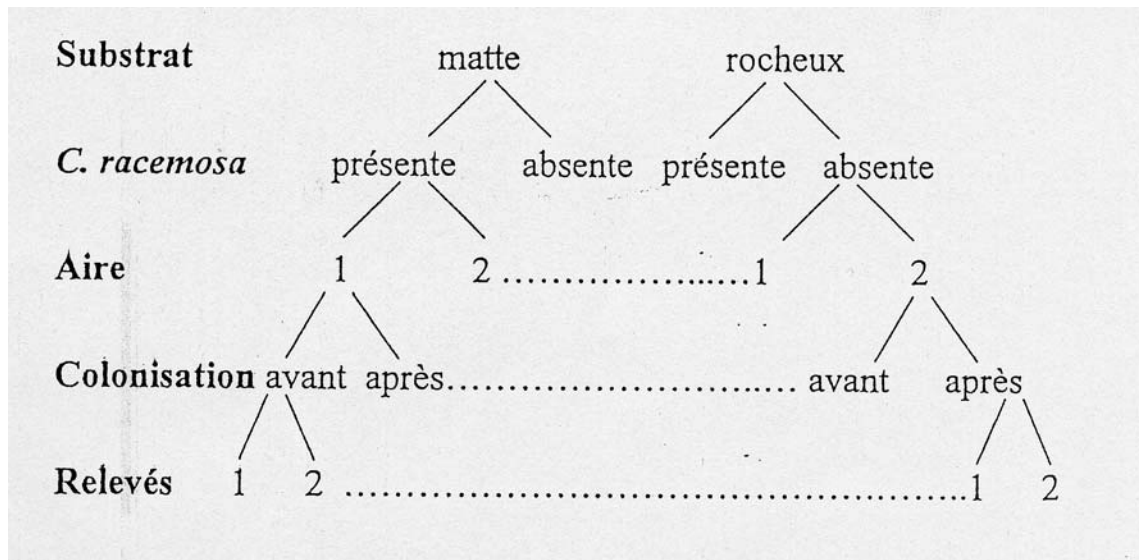


Figure 1. Plan d'échantillonnage.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Au total 88 espèces algales ont été identifiées, parmi lesquelles 11 Fucophyceae, 61 Rhodophyceae, 16 Chlorophyceae. Au printemps 1998, sur substrat rocheux et sur

matte morte les paramètres obtenus ont été respectivement 36.2 ± 4.0 (m \pm DS) et 38.7 ± 2.6 pour le nombre d'espèces, 121.7 ± 17.8 et 128.7 ± 7.7 pour le recouvrement, 2.00 ± 0.19 et 2.16 ± 0.34 pour l'indice de diversité de Shannon-Weaver. Trois mois après, le recouvrement de *Caulerpa racemosa* avait atteint 81.8 ± 5.5 sur matte morte et 83.8 ± 3.2 sur substrat rocheux. Les valeurs de l'indice de diversité ont fortement diminué dans les aires envahies (0.97 ± 0.12 sur matte morte, 1.42 ± 0.08 sur substrat rocheux) (fig. 2a) ; le recouvrement total des autres espèces algales est également diminué (72.9 ± 7.1 sur matte morte et 76.6 ± 11.6 sur substrat rocheux) (fig. 2b). L'analyse de variance a montré une interaction significative entre avant et après l'envahissement pour les différences de H' (substrat x colonisation : $F_{1,1} = 163.2755$; $p = 0.049$) et R (colonisation x aire : $F_{1,16} = 6.50$; $p = 0.021$; temps x aire : $F_{1,16} = 4.46$; $p = 0.047$) dans les aires envahies par rapport aux aires de référence. Il n'y avait pas de différences significatives pour le nombre d'espèces (fig. 2c). La dominance quantitative des espèces encroûtantes et gazonnantes a diminué dans les aires envahies par rapport aux références, alors que celles des espèces arbustives ont augmenté (tab. I).

Les résultats de cette étude, qui doivent être considérés comme préliminaires, ont montré que des effets sur les communautés algales se manifestent à partir des premières phases d'envahissement. Les stolons de *Caulerpa racemosa* se développent très facilement sur les autres espèces algales et le réseau qu'ils forment constitue rapidement une couche très épaisse, laquelle, aux premiers stades de colonisation, endommage surtout les algues constituant la sous strate, alors que les espèces dressées et leurs épiphytes montrent une plus grande résistance.

Un appauvrissement semblable des communautés algales a été décrit comme conséquence de la colonisation de *Caulerpa taxifolia* (VERLAQUE & FRITAYRE, 1994), même si dans ce dernier cas l'effet de l'envahissement a été plus marqué pour les espèces dressées que pour les espèces encroûtantes. Ces résultats font supposer que les deux Caulerpaceae présentent des mécanismes compétitifs différents, même si les effets à long terme sur les communautés benthiques peuvent être semblables. La poursuite de l'étude devrait permettre de vérifier cette hypothèse et d'évaluer les changements de la structure des peuplements algaux envahis par rapport au cycle de développement végétatif de la Caulerpacée.

Table I. Dominance quantitative des espèces algales encroûtantes, gazonnantes et arbustives dans les aires envahies par *Caulerpa racemosa* et dans les aires de référence (m \pm DS).

			mai 1998	août 1998
Algues encroûtantes	<i>Caulerpa racemosa</i> présente	matte morte	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
		substrat rocheux	12.8 ± 2.1	3.6 ± 2.0
	aires de référence	matte morte	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
		substrat rocheux	23.5 ± 7.6	26.5 ± 12.1
Algues gazonnantes	<i>Caulerpa racemosa</i> présente	matte morte	26.3 ± 10.9	16.3 ± 6.6
		substrat rocheux	25.9 ± 9.6	29.4 ± 5.8
	aires de référence	matte morte	32.7 ± 9.6	56.3 ± 10.6
		substrat rocheux	23.6 ± 7.6	17.3 ± 5.1
Algues arbustives	<i>Caulerpa racemosa</i> présente	matte morte	73.6 ± 10.9	83.8 ± 6.9
		substrat rocheux	61.3 ± 10.0	68.0 ± 3.4
	aires de référence	matte morte	67.0 ± 9.7	43.3 ± 10.5
		substrat rocheux	66.3 ± 7.1	56.2 ± 11.2

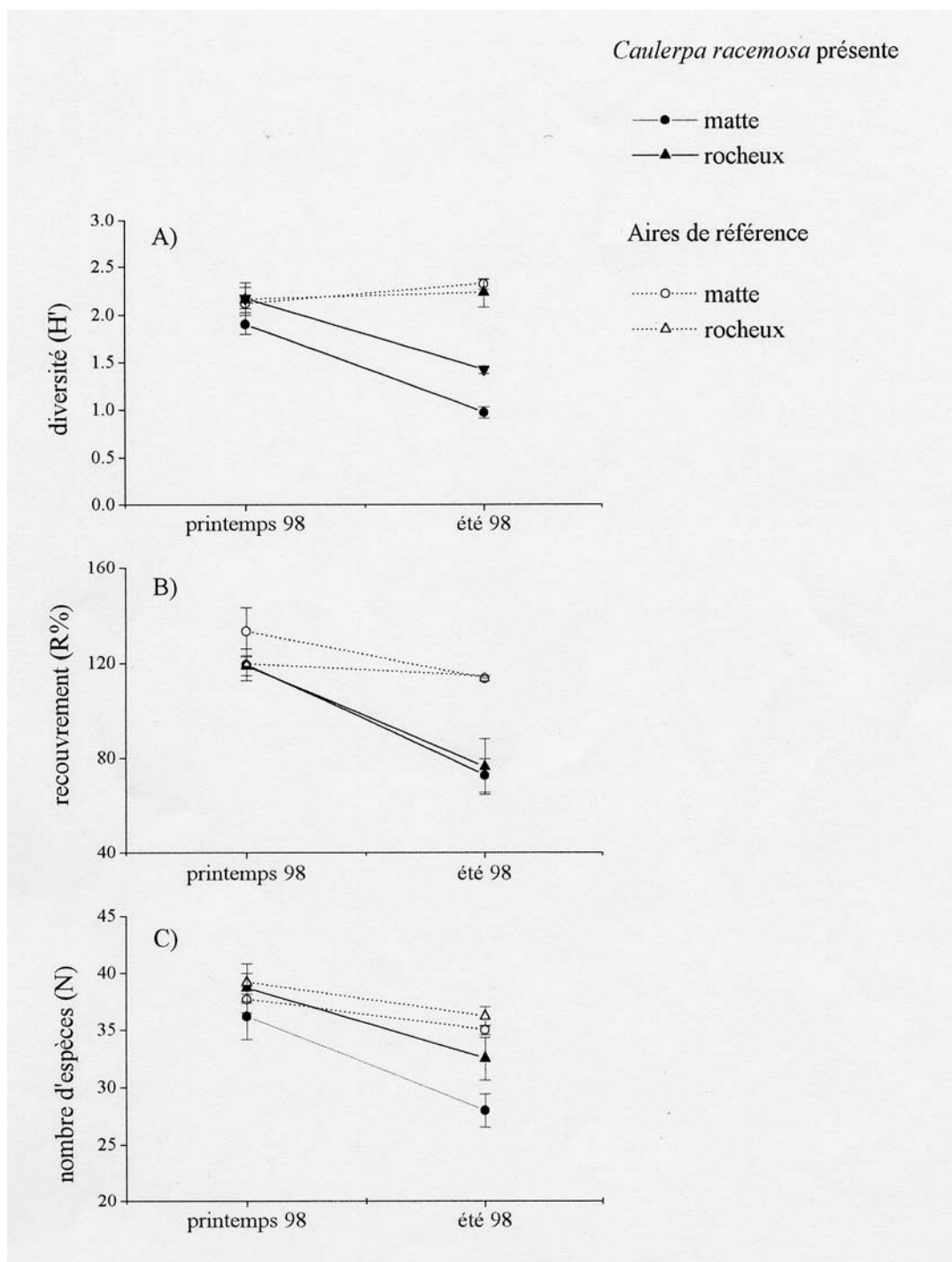


Figure 2. Indice de diversité (A), Recouvrement (B) et nombre d'espèces (C) des communautés algales de matte morte et de substrat rocheux dans les aires colonisées par *Caulerpa racemosa* et dans les aires de référence.

BIBLIOGRAPHIE

AIROLDI L., RINDI F., CINELLI F., 1995. Structure of a subtidal algal assemblage dominated by *Polysiphonia setacea* Hollenberg in Western Mediterranean. *Giornale Botanico Italiano* 128 : 782-783.

PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997. Expansion de l'algue tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) le long des côtes toscanes (Italie). *Cryptogamie, Algologie* 18 (4) : 343-350.

PIAZZI L., PARDI G., CINELLI F., 1996. Ecological aspects and reproductive phenology of *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston (Ceramiaceae, Rhodophyta) in the Tuscan Archipelago (western Mediterranean). *Cryptogamie, Algologie* 17 (1) : 35-43.

VERLAQUE M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanologica Acta* 17 (1) : 1-23.

VERLAQUE M., FRITAYRE P., 1994. Modifications des communautés algales méditerranéennes en présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Oceanologica acta* 17 (6) : 659-672.

THE DEVELOPMENT OF *CAULERPA RACEMOSA* AT THE MARGIN OF *POSIDONIA OCEANICA*

Giulia CECCHERELLI, Luigi PIAZZI & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, via A. Volta 6 Pisa,
56126 Italy

ABSTRACT

The aim of the field study that we present here was to determine the potential importance of the edge orientation of the *Posidonia oceanica* meadow and its shoot density on *Caulerpa racemosa*'s invasiveness of the seagrass patch and substrate cover. Our experimental approach consisted in the manipulation of the shoot density (10 %, 50 % and controls) in plots located at the margin of a *P. oceanica* meadow located at 2 m depth, where both the east-facing and west-facing edges have been chosen. Different orientation of margins involves different hydrodynamic and light conditions caused by the seagrass canopy that could play a major role and affect algal colonization. In July 1997, 3 fragments of *C. racemosa* were transplanted in each plot. Response variables were the surface covered by the alga and the distance from the margin of the seagrass patch invaded after 1 year of study. Results have shown a significant impact of shoot density of the seagrass on algal penetration into the patch of *P. oceanica*. However, no significant response to the treatments was observed in surface covered by the alga at the margin of the seagrass patch. Temporal patterns for both variables were evident.

RÉSUMÉ

L'étude présentée ici a pour but l'évaluation de l'incidence de l'orientation des limites et de la densité des faisceaux d'un herbier à *Posidonia oceanica* sur le développement de la Bryopsidophyceae *Caulerpa racemosa*. L'expérience consiste en une manipulation de la densité des faisceaux (10 %, 50 % et références) dans des aires choisies le long des limites est et ouest d'un herbier à *P. oceanica* situé à 2 m de profondeur. L'exposition des limites cause des différences d'hydrodynamisme et de lumière qui peuvent influencer la colonisation de la Caulerpaceae. En juillet 1997, trois fragments de *C. racemosa* ont été transplantés dans chaque aire. Les paramètres analysés ont été la surface couverte par l'algue et la pénétration des stolons à l'intérieur de l'herbier. Après un an d'étude, les résultats ont montré un effet significatif de la densité des faisceaux sur la pénétration des stolons à l'intérieur de l'herbier, alors qu'il n'y a pas d'effets sur la surface colonisée. Les deux variables ont montré des changements temporels importants.

INTRODUCTION

Biological invasions are a great threat to the integrity of natural communities of plants and animals and to the preservation of endangered species (CARLTON & GELLER, 1993, VITOUSEK *et al.*, 1997). However, despite the growing concern over the negative effects of such invasions we still know surprisingly little about the determinants of the distribution and abundance of invading species at both local and

regional scales (but see RICHARDSON & BOND, 1991; WILLIAMS & BLACK, 1994; TROWBRIDGE, 1995; REJMÁNEK & RICHARDSON, 1996; THÉBAUD *et al.*, 1996), about the conditions under which they will successfully invade and establish new communities (HOBBS & ATKINS, 1988), and the vulnerability to invasion for different communities (BURKE & GRIME, 1996; CRAWLEY, 1987).

Caulerpa racemosa (Forsskål) J. Agardh is a tropical green alga introduced into the Mediterranean as an immigrant from the Red Sea which has successfully spread in the south-eastern Basin (ALEEM, 1948; ALONGI *et al.*, 1993) and now also occurs in the north-western basin along the Tuscan coasts where it has been reported since 1994 (PIAZZI *et al.*, 1994, 1997a, 1997b). *C. racemosa* occurs mostly in shallow but also in deep subtidal habitats colonising either hard and soft substrata where turfs, erect algae and even seagrasses are present (PIAZZI *et al.*, 1997a, 1997b; PIAZZI & CINELLI, 2000); its quantitative dominance exhibited in many habitats has the potential to profoundly alter indigenous systems (PIAZZI *et al.*, 2001). Although *C. racemosa* is clearly a seaweed species exhibiting rapid growth (PIAZZI *et al.*, 1997b), mainly asexual reproduction, high dispersal and broad tolerance to physiological conditions, the extent to which biotic interactions influence the dramatic spread of the alga is not well known.

In this study, the effects of the presence of the native seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile on the non-indigenous *Caulerpa racemosa* were examined: a multifactorial experiment was designed to test the effect of the seagrass canopy structure and of seagrass edge orientation on algal performance along the edge and inside the meadow of *P. oceanica*. Seagrass canopy has been shown to structure the entire understoried assemblages (BELL & WESTOBY, 1986a, 1986b; ORTH, 1992; CONNOLLY & BUTLER, 1996; CECCHERELLI & CINELLI, 1998). Therefore, manipulation of the density of the seagrass, for example by reducing shoot density, can be used to examine the influence of the seagrass on size and growth of the alga. In this system *P. oceanica* provides subcanopy microhabitat to *C. racemosa* that is distinctly different from the open substrate because of canopy shading, reduction of water motion (GAMBI *et al.*, 1989, 1990) and production of secondary metabolites that can allelopathically interfere with understoried species and grazers (CUNY *et al.*, 1995). In this study, orientation of seagrass edge was tested as a potential source of variation in the performance of *C. racemosa* because algal specimens on east-facing edge may be exposed to a different water flow regime, intensity of bending of the seagrass leaves, photoperiod and light intensity relative to the west-facing ones.

The aim of this study is to provide a basis for further experimental investigations of the factors and mechanisms affecting the performance of this alga in the Mediterranean: investigation of the effect of shoot density and edge position provides a basis of understanding the interaction between *Posidonia oceanica* and *Caulerpa racemosa* predicting the spread of the alga in this habitat.

MATERIAL AND METHODS

The study site is shallow subtidal seagrass bed composed of patches either of *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson and *Posidonia oceanica* in 2 m depth, located near Livorno in Antignano (Italy) along the Tuscan coasts of the northwestern Mediterranean (43°30' N, 10°20' E). In this area, *Caulerpa racemosa* occurs on sandy and rocky substrate, mixed to *C. nodosa* and along the edge of *P. oceanica*.

This study was done over 1 year (from July 1997 to August 1998) and consists in a multifactorial experiment that tested the importance of seagrass canopy density and edge orientation on algal performance: experimental units (25 cm x 50 cm in size) were prepared at the edge of *Posidonia oceanica* meadow, because naturally in this position *Caulerpa racemosa* fragments settle in this habitat. Three different shoot densities of *P. oceanica* 10 %, 50 % and 100 % of natural density, which corresponded to the categories of very sparse (50-150 shoots.m⁻²), dense (400-700 shoots.m⁻²) and very dense (over 700 shoots.m⁻²) meadow according to GIRAUD (1977), were obtained by clipping different percentages of shoots of average natural density corresponding to 1525 shoots.m⁻². Eighteen areas were randomly chosen at least 3 m apart and randomly selected to be assigned to each of the treatment of edge orientation “positions”: exposed (west) and sheltered (east). Three areas were attributed to each of the six combinations of the levels of shoot density and position (10 %E, 10 %W, 50 %E, 50 %W, 100 %E and 100 %W) and in each area three plots were positioned 50 cm apart so that a total of 54 experimental units were prepared for the whole experiment. Transplanting of fragments of the alga was undertaken in July 1997.

Although patterns of spread of the alga were extremely variable among experimental units because *Caulerpa racemosa* elongated in different directions relative to the plot (along the edge of the seagrass as well as outwards the meadow), the density of the alga in the experimental units was estimated by measuring the percent cover: on 3 different occasions (December 1997, April and August 1998) photographs of a surface of about 25 x 25 cm in 2 plots per area were taken *in situ* and subsequent analysis of projected images through a transparent grid divided in small quadrats was performed. Percent number of small quadrats in which the alga was present was calculated for each sampling time and data relative to August 98 were analysed using a 3-way ANOVA with “position” (2 levels), “density” (3 levels) and “area” (3 levels) as variables.

Growth of stolons of *C. racemosa* inside the meadow was assessed on 7 dates (September, October and November 1997, February, April, June and August 1998) by measuring *in situ* in each plot stolon elongation taking the distance between the furthest stolon apex grown inside the meadow and the edge where fragments were transplanted. Data collected in August 1998 were analysed as above for the percent cover.

For both analyses “position” and “density” were treated as fixed and orthogonal, while “area”, “time” and “plot” random, where “area” is nested in the “position x density” interaction, “plot” is nested in “area” and “time” is orthogonal. Cochran’s test was used prior to the analyses to remove heterogeneity of variances when necessary and SNK test to compare levels of significant factors.

RESULTS

Growth of stolons of *Caulerpa racemosa* inside the meadow from transplants also underwent great fluctuations with high penetration distance found during autumn 1997, while a regression was observed in winter-spring 1998 (fig. 1). However, the growth pattern has shown the highest mean value in summer 1998, after one year of experimentation, when stolons had elongated on average from 25 to 50 cm. Density greatly affected this response variable: significantly higher penetration growth was observed where shoot density was lower (10 %) with respect to other treatments (50 % and 100 %) (tab. I, SNK test). Although not significant, edge position had a moderate effect on the short-term, as penetration was higher (53 %) at the west position relative to the east one where shoot density is 50 % (fig. 1). However, stolon elongation of the alga was highly dependent on the experimental area.

Table I. *Caulerpa racemosa*. Analysis of variance on algal growth inside *Posidonia oceanica* meadow (cm): Po=position, De=density and A=area. Significant results are in blood.

source of variation	df	MS	F	p
Position =Po	1	1075.57	1.67	0.2205
Density =De	2	2634.02	4.09	0.0442
Area(Po x De) =A	12	643.96	5.79	0.0000
Po x De	2	82.57	0.13	0.8808
Error	36	111.29		
Cochran's test		C=0.276		p>0.05

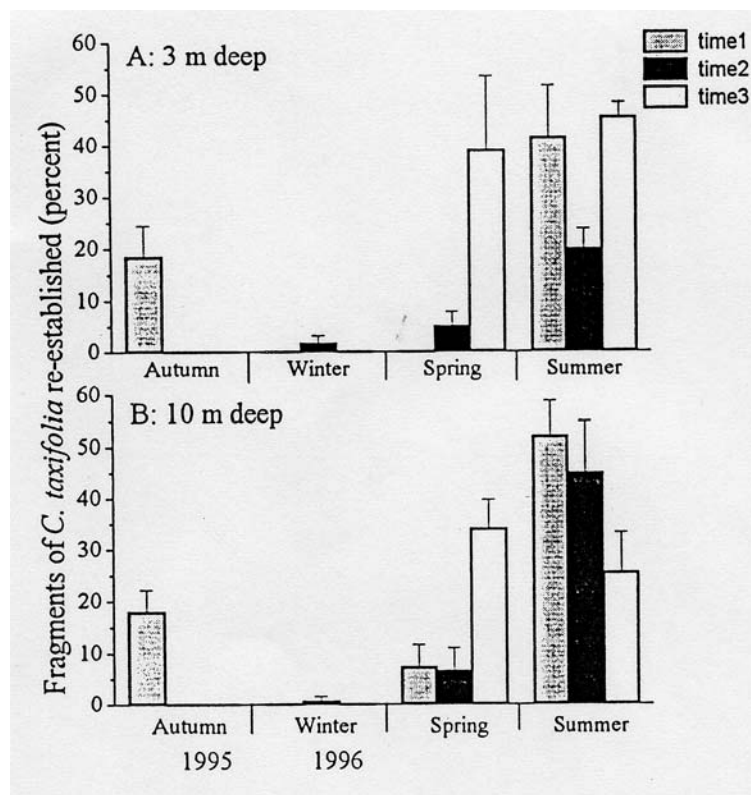


Figure 1. *Caulerpa racemosa*. Temporal variation of the mean (\pm SE) growth of stolons inside the *Posidonia oceanica* meadow from the edge position.

SNK test of the term De (SE = 5.98, df = 12) : 10 % > 50 % = 100 %.

Percent cover of *Caulerpa racemosa* in the experimental units was significantly affected by the characteristics of the area and not by other sources of variation (tab. II). Although time effect was not taken into account by the analysis, temporal fluctuations were observed also for this variable since a slight regression of the cover was evident during winter (fig. 2). However, after one year of growth, algal substrate cover had greatly increased as it was found on average more than 80 %.

Table II. *Caulerpa racemosa*. Analysis of variance on algal percent cover in each experimental unit: Po = position, De = density and A = area. Significant results are in bold.

source of variation		df	MS	F	p
Position	=Po	1	146.61	0.46	0.5080
Density	=De	2	462.84	1.47	0.2685
Area(Po x De)	=A	12	314.91	8.58	0.0000
Po x De		2	609.02	1.93	0.1870
Error		36	1175.40		
Cochran's test			C=0.318	p>0.05	

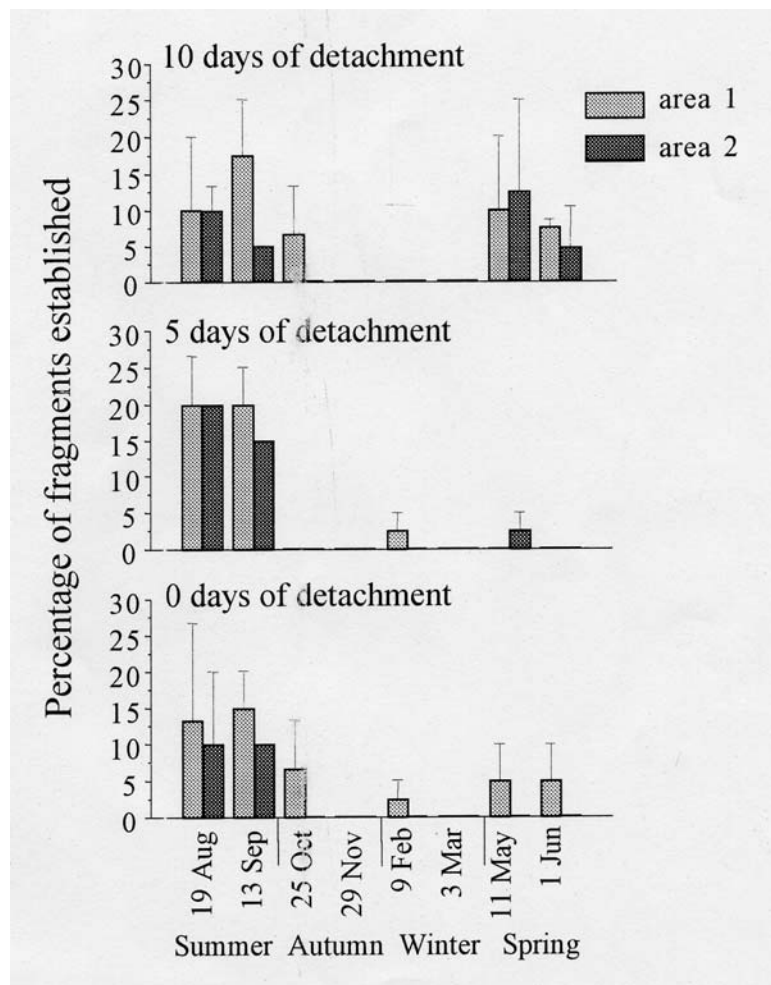


Figure 2. *Caulerpa racemosa*. Temporal variation of mean (\pm SE) percent cover of experimental units substrate at the edge of *Posidonia oceanica* meadow.

DISCUSSION

The results of this study indicated that where *Caulerpa racemosa* is at the edge of *Posidonia oceanica* the spread of the alga along the edge of the seagrass meadow is strongly characterised by spatial heterogeneity, and the growth of the alga inside the meadow is greatly influenced by seagrass density.

The pattern of colonisation has been found to be highly influenced by spatial heterogeneity suggesting that the horizontal growth of *Caulerpa racemosa* is affected by processes that change from one area of the substratum to another. Many factors can determine this small scale variability: the texture of the substratum, nutrient supply and the presence of turf forming algae, are all likely to be important regulators of the performance of the alga in the Mediterranean (CECCHERELLI *et al.*, 2001).

Growth of the *Caulerpa racemosa* inside the meadow was strongly affected by seagrass density. Overall, at the end of the experiment, stolon elongation of the alga was higher than the plot size and measures were taken inside the natural meadow. The experiment was intended to indicate the characteristics of the seagrass which determine the system's susceptibility to algal invasion, but in view of the fact that the experimental units were of moderate size (only 25 cm large in the meadow), the hypothesis tested in this experiment was that condition of the seagrass edge can determine a different invasibility of the meadow. In the first period of high production (autumn 1997), *C. racemosa* had abundantly grown inside the unmanipulated seagrass meadow only where shoot density was of 10 % respect to the natural density. However, the initial advantage given by the experimental manipulation was well recovered at longer term, especially at the east position, where differences in colonisation of the meadow were even less throughout the experiment.

Although different quantification methods of the algal abundance have been used for the two compartments (inside and outside the meadow) because of the patterns of growth, the colonisation of *Caulerpa racemosa* inside the seagrass meadow was inferior with respect to that along the edge of the meadow. In fact the spread inside the meadow occur through elongation of stolons within the seagrass shoots while at the same time wide dense patches of the alga are formed along the open edge of the seagrass meadow. Although, the native *Posidonia oceanica* represents a barrier to colonisation by the alga, patterns of invasibility of this habitat are likely to be highly influenced by the health status of the seagrass. In general, initial plant size has been evidenced as an important regulator of species assemblages in many systems (TILMAN, 1990; GERRY & WILSON, 1995) and in this study plant size, expressed as seagrass shoot density, influenced the invasive capability of the alga; seagrass density may thus be invoked as an important factor controlling the distribution and the composition of understoried *C. racemosa* as well as for other vegetation assemblages (CECCHERELLI & CINELLI, 1998; CECCHERELLI *et al.*, 2001).

Communities can be said to be invadable when an introduced species is able to establish and persist or expand (BURKE & GRIME, 1996). As suggested by CRAWLEY (1987) and REJMÁNEK (1989), a close cover of established indigenous species can be a major factor in reducing the probability of successful invasion. This is consistent with the

finding of this study which highlighted that the susceptibility of the indigenous community *Posidonia oceanica* to invasion by the introduced alga *Caulerpa racemosa* was related to the availability of bare ground created, since a lower invasion rate of very dense edges of the seagrass was observed with respect to the less dense ones.

Overall, from these results we predict that rapid invasions of *Posidonia oceanica* meadow of disturbed sites, which exhibit characteristics of decline such as low shoot density, will occur. This is perfectly in accordance with evidence supporting the fact that plant communities are generally more invadable when they are subject to some form of disturbance (ELTON, 1958; CRAWLEY, 1987; HOBBS & ATKINS, 1988). Furthermore, the spread of *Caulerpa racemosa* may be expected to be faster in open substrates, such as edges of *P. oceanica* meadow, respect to the inside of seagrass meadow.

Predictions either on the outcome of interaction between the introduced and indigenous species and the mechanisms responsible for patterns observed will be reported in subsequent papers.

Acknowledgements: We are sincerely grateful to Davide CAMPO for valuable help at the field. Funds for this study were provided by the European Community (research program EU-DG XI-LIFE) which also supported by contract G.C. and L.P. while writing the paper.

REFERENCES

- ALEEM A.A., 1948. The recent migration of certain Indopacific Algae from the Red Sea into the Mediterranean. *New Phytol.* 47 : 88-94.
- ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 26 : 49-53.
- BELL J.D., WESTOBY M., 1986a. Variation in seagrass height and density over a wide spatial scale : effects on common fish and decapods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 104 : 275-295.
- BELL J.D., WESTOBY M., 1986b. Abundance of macrofauna in dense seagrass is due to habitat preference, not predation. *Oecologia* 68 : 205-209.
- BURKE M.J.W., GRIME J.P., 1996. An experimental study of plant community invasibility. *Ecology* 77 : 776-790.
- CARLTON J.T., GELLER J.B., 1993. Ecological roulette : the global transport of nonindigenous marine organisms. *Science* 261 : 78-82.
- CECCHERELLI G., CINELLI F., 1998. Habitat effect on spatio-temporal variability of size and density of the introduced alga *Caulerpa taxifolia*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 163 : 289-294.
- CECCHERELLI G., PIAZZI L., CAMPO D., CINELLI F., 2001. The response of *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii* to the presence of *Caulerpa racemosa*. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 385-392.

CONNOLLY R.M., BUTLER A.J., 1996. The effects of altering seagrass height on small, motile invertebrates of shallow Mediterranean embayments. *P.S.Z.N.I.: Mar. Ecol.* 17 (4) : 637-652.

CRAWLEY M.J., 1987. What makes a community invisable ? *Colonisation, succession and stability*. Crawley M.J., Edwards P.J., Gray A.J. eds., Blackwell Scientific, Oxford, England : 429-454.

CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1995. Water soluble phenolic compounds of the marine phanerogam *Posidonia oceanica* in a Mediterranean area colonised by the introduced chlorophyte *Caulerpa taxifolia*. *Aquat. Bot.* 52 : 237-242.

ELTON C.S., 1958. The ecology of invasions by animals and plants. *Methuen*, London, England.

GAMBI M.C., BUIA M.C., CASOLA E., SCARDI M., 1989. Estimates of water movement in *Posidonia oceanica* beds : a first approach. *International Workshop on Posidonia Beds*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Fresi E., Gravez V. eds., GIS Posidonie publ., France, 2 : 101-112.

GAMBI M.C., NOWELL A.R.M., JUMARS P.A., 1990. Flume observations on flow dynamics in *Zostera marina* (eelgrass) beds. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 61 : 159-169.

GERRY A.K., WILSON S.D., 1995. The influence of initial size on the competitive responses of six plant species. *Ecology* 76 (1) : 272-279.

GIRAUD G., 1977. Essai de classement des herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Bot. Mar.* 20 (8) : 487-491.

HOBBS R.J., ATKINS L., 1988. Effect of disturbance and nutrient addition on native and introduced annuals in plant communities in the Western Australian wheatbelt. *Austr. J. Ecology* 13 : 171-179.

ORTH R.J., 1992. A perspective on plant-animal interactions in seagrasses: physical and biological determinants influencing plant and animal abundance. *Plant-animal interactions in the marine benthos*. John D.M., Hawkins S.J., Price J.H. eds. Clarendon Press, Oxford, UK : 147-164.

PIAZZI L., ACUNTO S., MAGRI M., RINDI F., BALESTRI E., 1997a. Preliminary observations on the spread of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh in Meloria Shoals (Livorno, Italy). *Biol. Mar. Medit.* 4 : 426-428.

PIAZZI L., BALESTRI E., CINELLI F., 1994. Presence of *Caulerpa racemosa* in the North-Western Mediterranean. *Cryptogamie, Algal.* 15 : 183-189.

PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997b. Expansion de l'Algue Tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) le long de la côte Toscane (Italie). *Cryptogamie, Algal.* 18 : 343-350.

PIAZZI L., CECCHERELLI G., CINELLI F., 2001. Effet de *Caulerpa racemosa* sur la structure des communautés algales benthiques. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 371-375.

PIAZZI L., CINELLI F., 2000. Development and seasonal dynamics of a population of the tropical alga *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh in the Mediterranean. *Cryptogamie, Algal.* 21 (3) : 291-300.

REJMÁNEK M., 1989. Invasibility of plant communities. *Biological invasions: a global perspective*. Drake J., Di Castri F., Groves R., Kruger F., Mooney H., Rejmánek M., Williamson M. eds., Wiley and sons publ., Chichester, England : 364-388.

REJMÁNEK M., RICHARDSON D.M., 1996. What attributes make some plant species more invasive ? *Ecology* 77 (6) : 1655-1661.

RICHARDSON D.M., BOND W.J., 1991. Determinants of plant distribution : evidence from pine invasions. *Am. Nat.* 137 : 639-668.

THÉBAUD C., FINZI A.C., AFFRE L., DEBUSSCHE M., ESCARRE J., 1996. Assessing why two introduced *Conyza* differ in their ability to invade Mediterranean old fields. *Ecology* 77 (3) : 791-804.

TILMAN D., 1990. Mechanisms of plant competition for nutrients: the elements of a predictive theory of competition. *Perspectives on plant competition*. Grace J.B., Tilman D. eds., Academic Press, San Diego California, USA : 117-141.

TROWBRIDGE C.D., 1995. Establishment of the green alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* on New Zealand rocky shores: current distribution and invertebrate grazers. *J. Ecol.* 83 : 949-965.

VITOUSEK P.M., D' ANTONIO C.M., LOOPE L.L., REJMÁNEK M., WESTBROOKS M., 1997. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand J. Ecol.* 21 : 1-16.

WILLIAMS D.G., BLACK R.A., 1994. Drought response of a native and introduced Hawaiian grass. *Oecologia* 97 : 512-521.

THE RESPONSE OF *CYMODOCEA NODOSA* AND *ZOSTERA NOLTII* TO THE PRESENCE OF *CAULERPA RACEMOSA*

Giulia CECCHERELLI, Luigi PIAZZI, Davide CAMPO & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa via A. Volta 6 Pisa,
56126 Italia

ABSTRACT

Non-indigenous seaweed species have been claimed to reduce the distribution of native seagrasses by competitively displacing them. In this study we present results obtained in a *Caulerpa racemosa* removal experiment carried out in a *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii* mixed seagrass bed invaded by the alga. The experiment started in December 1997 and the results here reported refer only to the first 8 months of study. Within the same study site we randomly chose 4 areas (about 6 m² each). In each of them 8 plots (40 x 40 cm in size) were randomly selected. Treatment consisted only in the removal of *Caulerpa racemosa*: response variables analysed for both seagrasses were shoot and flower density. Results obtained indicated that in areas where *C. racemosa* was present the shoot density of *C. nodosa* was lower than in controls, while for the *Z. noltii* areas we did not observe differences in summer data. The number of both male and female flowers under removal treatment are significantly lower than in the control areas, where *C. racemosa* is present. Although data obtained of the number of generative shoots of *Z. noltii* could not be analysed because of heteroscedasticity, figure observation showed a complete lack of them where *C. racemosa* was removed.

RÉSUMÉ

La compétition avec les algues allochtones est responsable de la réduction de la répartition des phanérogames marines natives. Dans l'étude présente, nous montrons les résultats d'une expérience d'élimination de *Caulerpa racemosa* d'un herbier à *Cymodocea nodosa* et à *Zostera noltii* envahi par l'algue. L'expérience a commencé en décembre 1997 et les résultats présentés ici concernent les huit premiers mois d'étude. A l'intérieur du site d'étude, quatre aires de 6 m² ont été choisies et 8 sites expérimentaux ont été sélectionnés à l'intérieur de chaque aire. Les réponses utilisées pour évaluer l'effet de l'élimination de *C. racemosa* par rapport aux références ont été les densités des faisceaux et des fleurs. Les résultats ont montré que la densité des faisceaux de *C. nodosa* était plus basse dans les aires où *C. racemosa* était présente par rapport aux références ; il n'y avait pas de différences pour *Z. noltii*. Le nombre de fleurs était plus bas dans les aires sans *C. racemosa* par rapport aux références. Bien que le nombre de faisceaux fleuris de *Z. noltii* n'ait pas été analysé à cause de la haute variabilité spatiale, une importante diminution a été observée là où *C. racemosa* avait été enlevée.

INTRODUCTION

The introduction of non-native plants has become an increasing problem in many different ecosystems. Introduced species have interested ecologists because of their effects on native ecosystems which are often detrimental to the biodiversity of their new

environment (e.g., CARLTON, 1989; LODGE, 1993 and references therein). Non-indigenous seaweed species, for instance, have been claimed to reduce the distribution of native seagrasses by competitively displacing them (DRUEHL, 1973; NORTON, 1976; PHILLIPS, 1984). Furthermore, understanding how invading species influence established communities and native species potentially offers a critical test of the relative importance of interspecific competition (MAC ARTHUR & LEVINS, 1967), predation (PAINE, 1966) and species equilibrium in structuring natural communities (BERTNESS, 1984).

Marine rhizophytic algae, such as the *Caulerpa* species, are highly invasive especially where they are non-native: most notably, *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the Mediterranean but also *Caulerpa scalpelliformis* (R. Brown) in Australia (DAVIS *et al.*, 1997).

The introduced species *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh has been showed to be a tropical green alga that is fast-spreading and colonizes many types of substrata in the Mediterranean (PIAZZI *et al.*, 1997a, 1997b). It has been found on sand, cobbles, on algal mats and seagrass habitats such as *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. and *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Caulerpa racemosa*, given its high abundance and percent cover in most of the habitats of occurrence, was thought to be another potential determinant of decline for indigenous seagrasses like in the Mediterranean the extraordinarily successful invasive alga, *Caulerpa taxifolia*, which was invoked as a further cause of regression of both *Cymodocea nodosa* (CECCHERELLI & CINELLI, 1997) and *Posidonia oceanica* (L.) Delile (VILLÈLE & VERLAQUE, 1995). Overall, although many non-indigenous species have been recognised as negatively interacting with native seagrasses, their contribution to decline is poorly known. This experimental investigation was carried out in a mixed, *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii* Hornemann, seagrass bed invaded by the alga and attempts to highlight the effect of *Caulerpa racemosa* on the native seagrasses and thus to make predictions on the outcome of their interactions.

MATERIAL AND METHODS

This study has been carried out since December 1997 in Antignano (Livorno, Italy), along the Tuscany coast. Here we present data obtained until July 1998.

Within the same study site we randomly chose 4 areas (about 6 m² in size). In each of them eight permanent plots (40 cm x 40 cm) were randomly positioned. Treatment consisted in the manipulation of the presence of *Caulerpa racemosa* in two areas and leaving the other two as controls. Response variables considered were shoot and flower density of *Cymodocea nodosa* and vegetative and reproductive shoot density of *Zostera noltii*. Sampling data for vegetative shoot density were taken on 4 dates (December 1997, March, May and July 1998) while reproductive structures were sampled once on June 1 1998.

To analyse data, two-way ANOVAs were performed for all variables and for the vegetative shoot density of both species analysis was performed on the last sampling data (July 1998). Removal “treatment” was treated as a fixed factor while “area” as random and nested in the treatment. Cochran’s test was used prior to the ANOVA to test the assumption of homogeneous variances.

RESULTS

Results show a general decreasing pattern of *Cymodocea nodosa* shoot density during spring and a moderate summer increase where *Caulerpa racemosa* was present (fig. 1B), while in alga removal treatment, an overall increase of the density since winter was noted (fig. 1A). Analysis of the last sampling data (July 1998) did not reveal a significant effect of the presence of the alga on shoot density of this seagrass (tab. I).

The observed patterns were found to be consistent between areas, since no area effect was found to be significant (tab. I).

Table I. *Cymodocea nodosa*. Results of ANOVA on the shoot density: T=removal treatment, A=area. Cochran’s test was not significant (C=0.33, p>0.05).

Source of variance	d.f.	MS	F	p
Treatment =T	1	13022.53	17.5	0.0526
Area(T) =A	2	172.65	2.30	0.1190
Error	28	75.11		

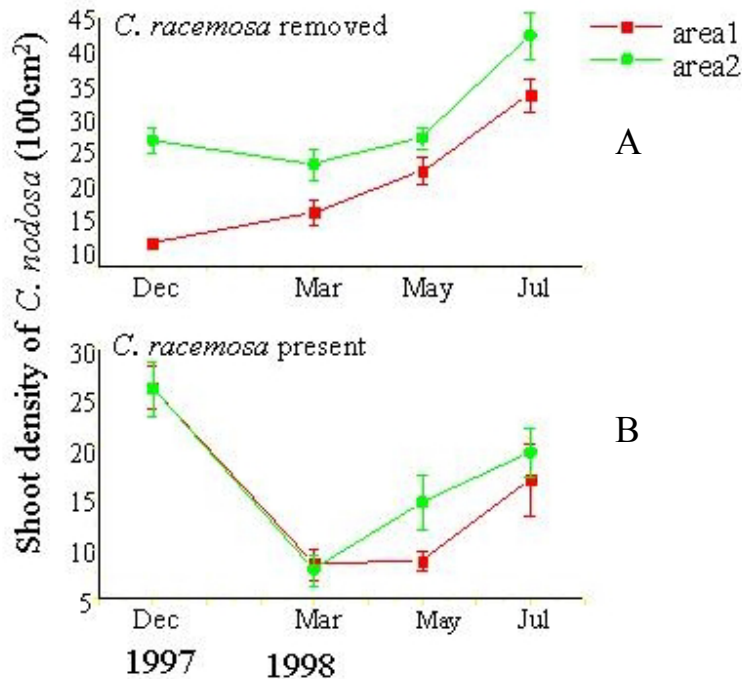


Figure 1. Temporal variation of mean (\pm SE) shoot density of *Cymodocea nodosa* in *Caulerpa racemosa* removal treatment and controls (n=8).

Opposite patterns were observed for *Zostera noltii* shoot density: wide temporal fluctuations were noted where *C. racemosa* was present, with higher means during spring (fig. 2B), while only a slight variation of the low shoot density occurred in alga-free treatments (fig. 2A). However, analysis of data taken in July does not show a significant effect of the removal treatment either for this response variable. Spatial homogeneity between areas was found by the analysis (tab. II).

Table II. *Zostera noltii*. Results of ANOVA on the shoot density: T=removal treatment, A=area. Cochran's test was not significant (C=0.53, p>0.05).

Source of variance	d.f.	MS	F	p
Treatment =T	1	731.53	5.12	0.1520
Area(T) =A	2	142.91	2.44	0.1055
Error	28	58.57		

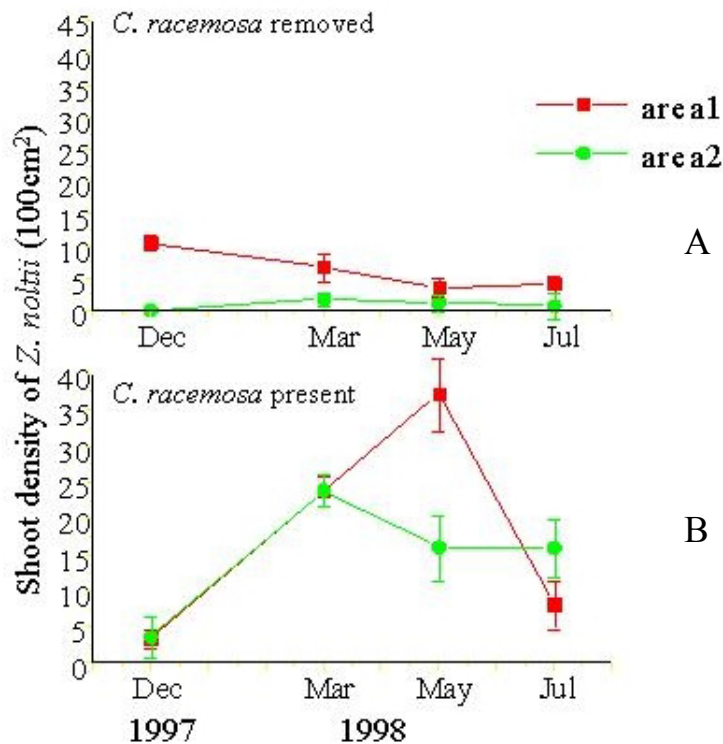


Figure 2. Temporal variation of mean (\pm SE) shoot density of *Zostera noltii* in *Caulerpa racemosa* removal treatment and controls (n=8).

Surprisingly, the overall presence of reproductive structures (flower and spathes) of both species was greater where *Caulerpa racemosa* was present (fig. 3). Female and male flowers were significantly denser in controls with respect to the treatments for both areas (fig. 3B, 3C and tab. III). Unfortunately, number of reproductive shoots for *Zostera noltii* could not be analysed because of heteroscedasticity even after data transformation. Density of *Cymodocea nodosa* female flowers, in contrast to male ones, was heterogeneously distributed among areas (tab. III).

Table III. Results of ANOVA on the flower density of the two seagrasses: T=removal treatment, A=area). For *Cymodocea nodosa* - female and male flowers Cochran's test were not significant after log transformation (C=0.36 and 0.32, $p>0.05$). Analysis for *Zostera noltii* flowers was not performed because of removal of heterogeneity of variances even after transformation was not possible.

Source of variance	d.f.	MS	F	p
<i>C. nodosa</i> - female				
Treatment =T	1	0.89	17.57	0.0002
Area(T) =A	2	1.39	27.34	0.0000
Error	28	0.05		
<i>C. nodosa</i> - male				
Treatment =T	1	2.27	111.03	0.0089
Area(T) =A	2	0.02	0.20	0.8169
Error	28	0.10		

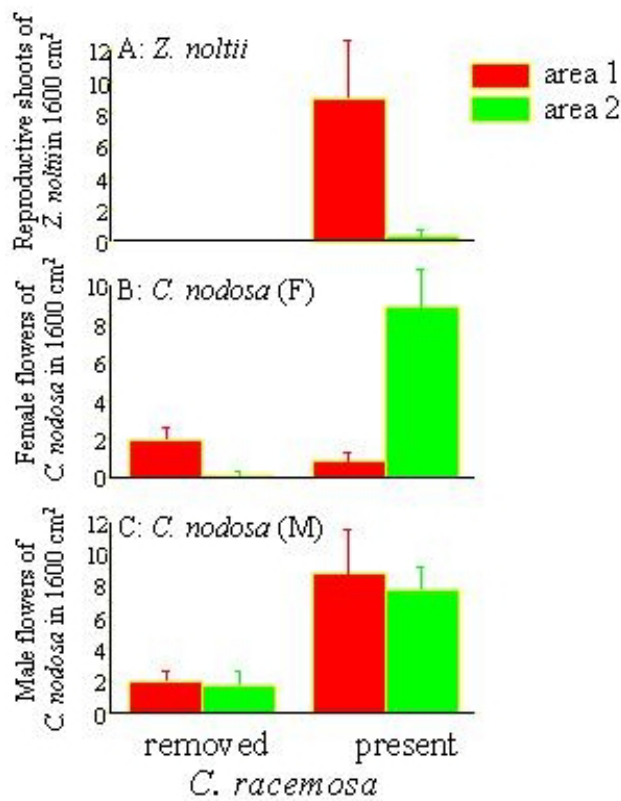


Figure 3. Mean number (+SE) of A) reproductive shoots of *Zostera noltii* B) female flower density of *Cymodocea nodosa* and C) male flower density of *Cymodocea nodosa* (n=8).

DISCUSSION

The results of the present study revealed that after 7 months of study the effect of *Caulerpa racemosa* on vegetative shoots of both native seagrasses is not significant, although during the study period a strong increase of *Zostera noltii* density was observed where the alga was present, while *Cymodocea nodosa* underwent a decrease. These results suggest that the introduced alga may have the potential to interfere with

the interaction between the two seagrasses which naturally occur in the same habitat: if *C. racemosa* has contrasting effects on the two seagrasses (positive on *Z. noltii* and negative on *C. nodosa*), then the alga is likely to shift the natural balance of the coexisting species. Some previous investigations have already highlighted contrasting effects of a plant species on others of similar characteristics and requirements and have recognized their force for structuring plant communities in both competition and facilitation (CALLAWAY, 1994; BERTNESS & CALLAWAY, 1994; CALLAWAY *et al.*, 1996; CALLAWAY & WALKER, 1997). The overall temporal increase of *C. nodosa* shoot density, where *C. racemosa* was removed, was found to be consistent with the seasonal fluctuations described for this species by other authors (TERRADOS & ROS, 1992; REYES *et al.*, 1995; RISMUNDO *et al.*, 1997). Unexpectedly, *Z. noltii* shoot density was found to be almost invariable throughout the study and consistently very low relative to other studies (VAN LENT *et al.*, 1991; VERMAAT & VERHAGEN, 1996).

Results obtained for flowers and reproductive shoots suggest that the presence of *Caulerpa racemosa* represents a stimulating factor for sexual reproduction for both *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii*. In general, many authors have suggested that sexual reproduction occurs in seagrasses more frequently in areas slightly colonized or in conditions of environmental stress (PHILLIPS *et al.*, 1983; SANTAMARIA *et al.*, 1995; CURIEL *et al.*, 1996). The expansion of *C. racemosa* on *C. nodosa* may represent a facilitating condition for moderate burial which in the past has been shown to increase the allocation of resources to sexual reproduction (MARBA & DURATE, 1994, 1995): the stratified growth of stolons of the alga may in fact constitute a trapping system for deposition of sediment (personal observation) that in this site represents a relevant phenomenon (AIROLDI *et al.*, 1996).

In summary the short-term effects of *Caulerpa racemosa* on *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii* here presented evidence a moderate overall influence of the introduced species on the vegetative condition of the mixed seagrass bed and conversely a great impact on the reproductive structures. Future studies will involve longer term investigations, that will be able to support these results, and analysis of the seed bank for *C. nodosa*, that will also help to predict genetic consequences of the enhanced sexual reproduction.

REFERENCES

- AIROLDI L., FABIANO M., CINELLI F., 1996. Sediment deposition and movement over a turf assemblage in a shallow rocky coastal area of the Ligurian Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 133 : 241-251.
- BERTNESS M.D., 1984. Habitat and community modification by an introduced herbivorous snail. *Ecology* 65 (2) : 370-381.
- BERTNESS M.D., CALLAWAY R., 1994. Positive interaction in communities. *Trends Ecol. Evol.* 9 (5) : 191-193.
- CARLTON J.T., 1989. Man's role in changing the face of the ocean: biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conserv. Biol.* 3 : 265-273.

- CALLAWAY R.M., 1994.- Facilitative and interfering effects of *Arthrocnemum subterminale* on winter annuals in a California salt marsh. *Ecology* 79 : 973-983.
- CALLAWAY R.M., WALKER L.R., 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* 78 (7) : 1958-1965.
- CALLAWAY R.M., DELUCIA E.H., MOORE D., NOWAK R., SCHLESINGER W.H., 1996. Competition and facilitation: contrasting effects of *Artemisia tridentata* on desert vs. montane pines. *Ecology* 77 (7) : 2130-2141.
- CECCHERELLI G., CINELLI F., 1997. Short-term effects of nutrient enrichment of the sediment and interactions between the seagrass *Cymodocea nodosa* and the introduced green alga *Caulerpa taxifolia* in a Mediterranean bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 217 : 165-177.
- CURIEL D., BELLATO A., RISMONDO A., MARZOCCHI M., 1996. Sexual reproduction of *Zostera noltii* Hornemann in the lagoon of Venice (Italy, north Adriatic). *Aquat. Bot.* 52 : 313-318.
- DAVIS A.R., ROBERTS D.E., CUMMINS S.P., 1997. Rapid invasion of a sponge-dominated deep-reef by *Caulerpa scalpelliformis* (Chlorophyta) in Botany Bay, New South Wales. *Austr. J. Ecology* 22 : 146-150.
- DRUEHL L.D., 1973. Marine transplantations. *Science* 179 : 12.
- LODGE D.M., 1993. Biological invasions: lessons for ecology. *Trends Ecol. Evol.* 8 : 133-137.
- MAC ARTHUR R.H., LEVINS R., 1967. The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species. *Am. Nat.* 101 : 377-385.
- MARBA N., DUARTE C.M., 1994. Growth response of the seagrass *Cymodocea nodosa* to experimental burial and erosion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 107 : 307-311.
- MARBA N., DUARTE C.M., 1995. Coupling of seagrass *Cymodocea nodosa* patch dynamics to subaqueous dune migration. *J. Ecol.* 83 : 381-389.
- NORTON T.A., 1976. Why is *Sargassum muticum* so invasive. *Br. Phycol. J.* 11 : 297-298.
- PAINÉ R.T., 1966. Food web complexity and species diversity. *Am. Nat.* 100 : 65-75.
- PHILLIPS R.C., 1984. The ecology of eelgrass meadows in the Pacific Northwest: a community profile. *U.S. Fish and Wildlife Service Report FWS/OBS-84/24* : 85 pp.
- PHILLIPS R.C., GRANT W.S. & MCROY C.P., 1983.- Reproductive strategies of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Aquat. Bot.*, 16: 1-20.
- PIAZZI L., ACUNTO S., MAGRI M., RINDI F., BALESTRI E., 1997a. Preliminary observations on the spread of *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh in Meloria Shoals (Livorno, Italy). *Biol. Mar. Medit.* 4 : 426-428.
- PIAZZI L., BALESTRI E., MAGRI M., CINELLI F., 1997b. Expansion de l'Algue Tropicale *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Bryopsidophyceae, Chlorophyta) le long de la côte toscane (Italie). *Cryptogamie, Algol.* 18 : 343-350.
- REYES J., SANSON M., AFONSO-CARRILLO J., 1995. Leaf phenology, growth and production of the seagrass *Cymodocea nodosa* at El Médano (South of Tenerife, Canary Islands). *Bot. Mar.* 38 : 457-465.
- RISMONDO A., CURIEL D., MARZOCCHI M., SCATTOLIN M., 1997. Seasonal pattern of *Cymodocea nodosa* biomass and production in the lagoon of Venice. *Aquat. Bot.* 58 : 55-64.

SANTAMARIA L., HOOTSMANS M.J.M., VAN VIERSSEN W. 1995. Flowering time as influenced by nitrate fertilisation in *Ruppia drepanensis* Tineo. *Aquat. Bot.* 52 : 45-58.

TERRADOS J., ROS J.D., 1992. Growth and primary production of *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in a Mediterranean coastal lagoon: the Mar Menor (SE Spain). *Aquat. Bot.* 43 : 63-74.

VAN LENT F., NIENHUIS P.H., VERSCHUURE J.M., 1991. Production and biomass of the seagrasses *Zostera noltii* Hornem. and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. at the Banc d'Arguin (Mauritania, NW Africa): a preliminary approach. *Aquat. Bot.* 41 : 353-367.

VERMAAT J.E., VERHAGEN F.C.A., 1996. Seasonal variation in the intertidal seagrass *Zostera noltii* Hornem.: coupling demographic and physiological patterns. *Aquat. Bot.* 52 : 259-281.

VILLÈLE X. de, VERLAQUE M., 1995. Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the north western Mediterranean. *Bot. Mar.* 38 : 79-87.

OTHER INTRODUCED SPECIES

*«Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia»
Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds.,
GIS Posidonie publ., Fr., 2001*

VEGETALI MARINI TROPICALI IN CALABRIA E SICILIA. DISTRIBUZIONE ED ECOLOGIA

Vincenzo DI MARTINO

Dipartimento di Botanica, Università di Catania; via Antonino Longo, 19; 95125 Catania, Italy

Key words: *Caulerpa* spp., *Halophila stipulacea*, *Womersleyella setacea*, *Acrothamnion preissii*, Sicily, Calabria, phytodiversity, ecology

ABSTRACT

Tropical marine plants off the sicilian and Calabrian coasts. Spread and ecology.

In the last twenty years the Sicilian and Calabrian coastal bottoms have seen the rapid spread of tropical seaweeds. The most important of these are *Caulerpa racemosa*, *C. taxifolia*, *Acrothamnion preissii* and *Womersleyella setacea*. *Caulerpa prolifera* has long been reported from these two regions, while the other species have been reported from the Sicilian coast only during the past few years. *Caulerpa racemosa* is the most widespread species in Sicily and in Calabria and in particular along the Ionian coast. Recently *Halophila stipulacea* has spread along the Thyrrenian and Ionian coasts of Sicily, around Vulcano Island (Eolian Islands) and near Syracuse (S-E Sicily) covering very large areas of soft bottoms. The spread of these tropical species is causing important changes in the vegetal diversity in areas affected by their settlement.

RÉSUMÉ

Durant ces 20 dernières années, les fonds des côtes de Sicile et de Calabre ont été le lieu de l'expansion de nombreuses espèces algales tropicales. Les plus importantes de celles-ci sont *Caulerpa racemosa*, *C. taxifolia*, *Acrothamnion preissii* et *Womersleyella setacea*. *Caulerpa prolifera* est également présente dans ces deux régions, mais depuis longtemps, alors que les autres espèces ne sont présentes que depuis quelques années. *Caulerpa racemosa* est l'espèce qui se développe le plus rapidement en Sicile et en Calabre et en particulier le long des côtes Ioniennes. Récemment, *Halophila stipulacea* s'est développée le long des côtes de la mer Thyrrenienne et des côtes de la mer Ionienne de Sicile, autours des îles volcaniques (îles Eoliennes) et près de Syracuse (S-E de la Sicile) couvrant des surfaces très importantes sur les fonds meubles. L'expansion des espèces tropicales citées précédemment a causé d'importants changements dans la diversité végétale des zones affectées par la colonisation.

RIASSUNTO

I fondali delle coste di Sicilia e Calabria da circa venti anni sono interessati da una intensa diffusione di alghe di origine tropicale, tra queste le più appariscenti sono *Caulerpa racemosa*, *C. taxifolia*, *Acrothamnion preissii* e *Womersleyella setacea*. *Caulerpa prolifera* è da sempre segnalata lungo i fondali delle due regioni. Tra queste specie, *Caulerpa racemosa* è quella che ha avuto il maggiore successo, colonizzando ampi tratti di fondali in Sicilia orientale ed in Calabria. Un'altra specie vegetale di origine tropicale segnalata lungo questi fondali è la

Angiosperma marina *Halophila stipulacea*. Questa pianta da circa un anno sta ampliando il suo areale colonizzando diversi ettari di fondale nel litorale siracusano, lungo le coste tirreniche e ioniche della Sicilia e attorno all'Isola di Vulcano. La diffusione di queste specie di provenienza tropicale sta comportando modificazioni nella diversità vegetale dei fondali interessati da questa colonizzazione.

PREMESSA

Il *Mare Nostrum* da circa centocinquanta anni sta subendo una continua invasione da parte di organismi, animali e vegetali, provenienti dal bacino Indo-Pacifico a causa di due eventi che si sono succeduti in questo periodo di tempo. Il primo di tali eventi coincide con l'apertura, nel 1869, del Canale di Suez. Da questo momento si assiste, infatti, ad un flusso migratorio continuo di organismi, indicati come specie Lessepsiane, che dal Mar Rosso giungono nel settore Orientale del bacino Mediterraneo (POR, 1981). Tutti questi organismi inizialmente rimangono confinati lungo le coste siripalestinesi, turche ed egiziane per via del continuo afflusso di milioni di metri cubi di acqua dolce che quotidianamente il Nilo scaricava in Mediterraneo, costituendo una invalicabile barriera ecologica alla loro diffusione verso i settori Centrale ed Occidentale del Mediterraneo.

Nel 1965 viene completata la Diga di Assuan e ciò causa una drastica riduzione nella portata d'acqua del basso corso del Nilo, che si riduce a circa un terzo di quella originaria, diminuendo di conseguenza l'afflusso di acqua dolce in Mediterraneo. Due anni dopo (nel 1967) vengono eseguiti lavori di scavo e ampliamento del Canale di Suez. Ciò comporta un aumento, a circa 3-4 nodi, della velocità del flusso d'acqua in ingresso nel Mediterraneo. Da questo momento viene a cadere la barriera ecologica che confinava le specie Lessepsiane nel settore Orientale del Mediterraneo.

A questo punto l'Egeo e lo Jonio vengono interessati da una massiva invasione di specie migranti. Esempi significativi di questa accelerazione espansionistica sono costituiti tra i vegetali marini dalle alghe rosse *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R. E. Norris, *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston e *Lophocladia lallemandii* (Montagne) Schmitz, dalle alghe verdi *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh (come *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützing), *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh e *Caulerpa scalpelliformis* (Brown ex Turner) C. Agardh, dall'alga bruna *Styopodium schimperi* (Buchinger ex Kützing) Verlaque et Boudouresque e tra le Angiosperme da *Halophila stipulacea* (Forsskål) Ascherson (DI MARTINO & GIACCONE, 1995a e b ; ERTAN *et al.*, 1998 ; VERLAQUE, 1994).

I motivi di una tale espansione non vanno, però, ricercati solo in cause di natura antropica (apertura del Canale di Suez e chiusura della Diga di Assuan). Il successo adattativo delle specie migranti, infatti, è anche favorito da cause naturali. Queste specie hanno trovato in Mediterraneo un'area biogeografica ospitale (POR & DIMENTMAN, 1985) anche a causa dei processi di tropicalizzazione delle sue acque e di meridionalizzazione dei suoi settori settentrionali (GAYOL *et al.*, 1995). LÜNING (1990), infatti, inserisce il Mediterraneo nella fascia calda dell'oceano mondiale.

LA DISTRIBUZIONE IN CALABRIA E SICILIA

Come più sopra accennato, negli ultimi venti anni la presenza di vegetali marini di origine tropicale è sempre più aumentata. Tanto che oggi alcune di queste specie (ad es. *Caulerpa racemosa*, *C. taxifolia*, *Acrothamnion preissii*, *Womersleyella setacea* e *Halophila stipulacea*) rappresentano le specie dominanti in molti degli ambienti in cui sono presenti.

Le specie del genere *Caulerpa* sono molto ben rappresentate lungo le coste siciliane e calabre. A testimonianza di ciò si possono citare i sintaxa *Caulerpetum taxifoliae* (come *Caulerpetum mexicanae* Giaccone & Di Martino, *Caulerpetum proliferae* Giaccone & Di Martino e *Caulerpetum racemosae* Giaccone & Di Martino, tutti recentemente descritti per le coste ioniche della Sicilia (GIACCONE & DI MARTINO, 1997a; GIACCONE & DI MARTINO, 1998).

La specie *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux è ampiamente diffusa lungo le coste della Sicilia e delle sue isole minori (GIACCONE *et al.*, 1985). In Calabria è segnalata nel versante ionico lungo i litorali di Capo Rizzuto e Capo Colonna (GIACCONE, 1969) mentre nel versante tirrenico la si trova lungo il litorale di Palmi (GIACCONE, 1969) e, più a sud, tra Scilla e Punta Pezzo.

Caulerpa racemosa (Forsskål) J. Agardh è stata segnalata per la prima volta nelle acque italiane da ALONGI *et al.* (1993) nell'Isola di Lampedusa e nella Baia di Santa Panagia (Siracusa - Sicilia sud orientale). Questa specie oggi è ampiamente presente anche nell'Isola di Pantelleria (PICCHETTI & MORSELLI, com. pers.) mentre lungo le coste ioniche siciliane ha esteso il suo areale di distribuzione che ora comprende tutto il litorale tra Santa Maria La Scala (a nord di Catania) e Capo Passero (a sud di Siracusa) (DI MARTINO & STANCANELLI, 1998) colonizzando tutti gli spazi di fondale libero compresi tra 1 e 30 metri di profondità. Inoltre, *C. racemosa* è recentemente comparsa lungo la fascia costiera dello Stretto di Sicilia nei fondali compresi tra Capo Passero e Pozzallo (in provincia di Ragusa). In questa nuova stazione *C. racemosa* non raggiunge mai alti valori di ricoprimento e convive con le preesistenti praterie a *Cymodocea nodosa*. Lungo le coste calabre *C. racemosa* risulta presente in maniera discontinua (chiazze isolate) sia nel versante tirrenico che ionico (Capo Rizzuto), sul versante calabro dello Stretto di Messina i talli di *C. racemosa* sono frammisti a *C. taxifolia*.

Caulerpa taxifolia (Vahl) C. Agardh è presente in Sicilia sin dal 1993, quando FRADÀ-ORESTANO *et al.* (1994) ne segnalano la presenza nei fondali dello Stretto di Messina in località Torre Faro a nord di Messina. Successivamente FRADÀ-ORESTANO & CALVO (1995) riportano di alcune segnalazioni, non verificate, per le coste Tirreniche della Sicilia in stazioni ubicate nel Golfo di Patti e a Capo Milazzo.

Caulerpa taxifolia, in questi ultimi anni, ha ulteriormente ampliato la sua distribuzione nei fondali dello Stretto di Messina. Infatti, sul versante Siciliano alle batimetriche comprese tra 1 e 35 metri colonizza, in maniera pressoché continua, il tratto compreso tra Capo Peloro, a nord, e Punta S. Ranieri, a sud di Messina; mentre più in profondità, fino a -55 m, nello stesso tratto di mare è presente con stoloni isolati che formano soltanto chiazze discontinue. Sul versante calabro tirrenico dello Stretto la si ritrova tra -

10 e -35 m nei fondali compresi tra Bagnara Calabria, a nord, e Villa S. Giovanni, a sud. Anche, lungo le coste ioniche della Sicilia si sono compiute sporadiche osservazioni di chiazze isolate di *C. taxifolia* nel tratto di mare compreso tra Messina e Taormina.

Tra le Rhodophyceae di origine tropicale, presenti lungo le coste di Calabria e Sicilia, quelle che hanno raggiunto elevati lavori di copertura del substrato e/o dei vegetali epifitati sono *Womersleyella setacea* e *Acrothamnion preissii*.

Womersleyella setacea (Hollenberg) R. E. Norris fu segnalata per la prima volta nelle acque siciliane, come *Polysiphonia setacea* Hollenberg, da CORMACI *et al.* (1993) che la ritrovarono nell'Isola di Lampedusa epifita di *Flabellia petiolata* e *Halimeda tuna*. Successivamente GIACCONE & DI MARTINO (1998) segnalano *W. setacea* a Capo S. Croce a nord della Baia di Augusta (Siracusa) come epifita di *C. prolifera*. Questa specie è, inoltre, presente nei fondali della Penisola Maddalena (Siracusa) (MARINO *et al.*, 1999a e b), dove è ampiamente diffusa nei piani Infralitorale e Circolitorale in cui occupa, con alti valori di ricoprimento, tutte le nicchie rese disponibili dalla destrutturazione dei preesistenti popolamenti, e nel tratto di mare tra Vendicari (BLUNDO *et al.*, 1999) e Capo Passero, a sud di Siracusa. *W. setacea* è stata da noi, recentemente, ritrovata a Pantelleria mentre SERIO (com. pers.) la segnala a Panarea (Isole Eolie).

Acrothamnion preissii (Sonder) Wollaston è, anch'esso, presente lungo le coste ioniche della Sicilia. GIACCONE & DI MARTINO (1998) lo ritrovano in località Capo S. Croce a nord di Augusta (Siracusa), insieme a *W. setacea*, come specie epifita del *Caulerpetum proliferae* Giaccone & Di Martino 1997 (GIACCONE & DI MARTINO, 1998).

Una notazione di carattere fitosociologico va fatta per queste due ultime specie. *A. preissii* e *W. setacea* rappresentano, infatti, le specie caratteristiche elettive del sintaxon subordinato *Acrothamnetum preissii* Di Martino & Giaccone 1996 descritto (DI MARTINO & GIACCONE, 1996) per il *Caulerpetum taxifoliae* Di Martino & Giaccone 1996 e presente anche nel *Caulerpetum proliferae* Giaccone & Di Martino 1997 di Capo S. Croce (GIACCONE & DI MARTINO, 1997).

La Fanerogama *Halophila stipulacea* (Forsskål) Ascherson è stata segnalata per la prima volta in Italia nel 1988 (VILLARI, 1988) nei fondali di Riposto (a nord di Catania), nella costa ionica siciliana. Successivamente BILIOTTI & ABDELAHAD (1990) ripetono questa segnalazione, senza tener conto di quanto già pubblicato da Villari due anni prima, indicando come località di prima segnalazione la Baia di Giardini-Naxos (a sud di Messina) sempre nella costa ionica siciliana. Successivamente ALONGI *et al.* (1992) segnalano la presenza di *H. stipulacea* a Catania in località Caito nell'avanporto del Porto di Catania mentre ACUNTO *et al.* (1997) ritrovano una prateria, discretamente estesa, di questa fanerogama nei fondali della Baia di Levante nell'Isola di Vulcano (Arcipelago delle Eolie - Mar Tirreno Meridionale). Lungo la costa tirrenica della Sicilia *H. stipulacea* è presente nei laghetti di acqua salmastra nel litorale di Tindari (Messina).

Recentemente, la distribuzione di questa fanerogama si è ulteriormente estesa lungo le coste ioniche della Sicilia. Ad oggi, infatti, *H. stipulacea* colonizza ampi tratti di fondale a sud della Penisola Maddalena (Siracusa), dove forma un prato in località Capo Meli ad una profondità compresa tra 18 e 26 m. Un'altra prateria di oltre 15 ettari è presente in località Ognina di Siracusa, tra Punta del Corvo e Punta del Cane, in una fascia di fondale compreso tra le batimetriche dei -12 e -30 m. In entrambe queste stazioni alla fanerogama è frammista la Chlorophyceae *C. racemosa*. In queste nuove stazioni abbiamo osservato una intensa fioritura di *H. stipulacea* nel mese di ottobre 1998.

CONSIDERAZIONI ECOLOGICHE E NOTE SULLA DIVERSITÀ BIOLOGICA NEI POPOLAMENTI CARATTERIZZATI DA VEGETALI MARINI TROPICALI DI CALABRIA E SICILIA

La presenza in Mediterraneo di entità vegetali di origine alloctona ha, inevitabilmente, apportato cambiamenti nel preesistente assetto vegetazionale di questo mare.

Per *Caulerpa prolifera* sono, di recente, segnalati fenomeni espansivi collegati ad eventi tendenti a perturbare i popolamenti vegetali presenti in Mediterraneo. Questa specie, per altro, rientra nella normale dinamica vegetazionale della prateria a *Posidonia oceanica* (PÉRÈS e PICARD, 1964).

Le specie alloctone, sopra citate, hanno, invece, dato modo ai ricercatori di osservare due differenti meccanismi di interazione con i popolamenti originari. Il primo di questi è di pura competizione. Alcune specie vegetali riescono a colonizzare in breve tempo qualunque tipo di substrato soppiantando le specie già presenti. Un esempio di ciò è rappresentato dall'espansione di *Caulerpa taxifolia* nel Mediterraneo nord-occidentale. Questa specie, infatti, negli areali di prima colonizzazione ha ricoperto molti ettari di fondali marini, spesso da tempo abbandonati dai Posidonieti in precarie condizioni per il degrado ambientale e per le condizioni sfavorevoli in cui si trovavano (DI MARTINO & GIACCONE, 1995b ; CHISHOLM *et al.*, 1995). Nei mari siciliani ad oggi non sono stati, ancora, osservati eventi di questo tipo.

La colonizzazione di *Caulerpa taxifolia* (come *C. mexicana*) in Sicilia a Calabria non ha costituito un evento distruttivo per i preesistenti popolamenti. Questa specie, infatti, ha colonizzato areali, quasi del tutto, privi di manto vegetale, costituiti da fondali sabbiosi e ciottolosi in ambienti a forte reofilia (Stretto di Messina). Una dimostrazione di ciò risiede nell'aumentata diversità vegetale dei popolamenti che hanno *C. taxifolia* (come *C. mexicana*) come specie caratteristica (DI MARTINO & GIACCONE, 1995c ; DI MARTINO & GIACCONE, 1996 ; GIACCONE & DI MARTINO, 1995a).

Il secondo meccanismo di interazione con i popolamenti preesistenti consiste nel riempimento delle nicchie lasciate libere dalla destrutturazione dei popolamenti originari o a causa degli eventi climatici che da oltre venti anni interessano il Mar Mediterraneo e che hanno contribuito ad annullare le distanze tra le nicchie ecologiche dell'infralitorale con la rarefazione, negli orizzonti alti di questo piano bionomico, di

specie stenovalenti e il conseguente aumento di specie eurivalenti e compattatrici di nicchia (GIACCONE, 1997).

Un chiaro esempio di questo secondo meccanismo di interazione è rappresentato dalle specie *Caulerpa racemosa* e *Womersleyella setacea* che lungo il litorale ionico siciliano, tra S. Maria La Scala (Catania) e Capo Passero (Siracusa) sono ormai ampiamente diffuse avendo occupato, pressoché, tutte le nicchie libere dei piani Infralitorale e Circalitorale costituendo in molti areali la vegetazione dominante (BLUNDO *et al.*, 1998 ; GIACCONE & DI MARTINO, 1998).

La presenza di *Caulerpa racemosa* nella Baia di S. Panagia ha addirittura rappresentato un mezzo di risanamento ambientale per quel tratto di mare, dove era originariamente presente un rigoglioso Posidonieto, fortemente degradato dal massivo apporto di inquinanti dovuto alla forte industrializzazione dell'entroterra. Qui insiste, infatti, il più grosso polo petrolchimico del Mediterraneo (GIACCONE & DI MARTINO, 1995b).

Halophila stipulacea, come dimostrato dai siti nei quali si è insediata, è una specie che colonizza fondali incoerenti caratterizzati da un basso regime reologico e nei quali, precedentemente al suo impianto, non era presente nessun tipo di vegetazione. La presenza di questa fanerogama alloctona non ha pertanto arrecato un turbamento del manto vegetale preesistente ma, anzi, ha contribuito ad innescare nuove dinamiche evolutive per questi ambienti a bassa diversità biologica. In alcuni casi *H. stipulacea* convive con *Cymodocea nodosa* oppure si impianta ai margini della prateria a Posidonia, in altri casi forma prati misti insieme a *Caulerpa prolifera* e a *C. racemosa*.

In conclusione si può affermare che la presenza di caulerpe sui fondali marini di Calabria e Sicilia non ha costituito un danno ma si è invece rivelata come una inaspettata possibilità di ripopolamento e di arricchimento in biodiversità per le aree degradate e per quegli ambienti estremi, come i substrati ghiaiosi dello Stretto di Messina, che difficilmente sarebbero stati colonizzati da specie vegetali indigene. Mentre, contrariamente a quanto osservato da PIAZZI & CINELLI (2001) nei popolamenti a *Posidonia oceanica* del Mediterraneo occidentale, nelle aree da noi studiate la presenza di *Womersleyella setacea* e *Acrothamnion preissii* non va vista come un fenomeno invasivo che toglie spazio alle specie indigene, abbattendo la biodiversità vegetale, ma come un fenomeno di inserimento di nuove specie in nicchie scarsamente utilizzate o comunque non ancora saturate nella composizione floristica.

BIBLIOGRAFIA

ACUNTO S., MALTAGLIATI F., RINDI F., ROSSI F., 1997. Osservazioni floristiche sui popolamenti bentonici della Baia di Levante dell'Isola di Vulcano (Isole Eolie). *Biol. Mar. Medit.* 4 (1) : 348-350.

ALONGI G., CORMACI M., FURNARI G., GIACCONE G., 1993. Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 26 (342) : 49-53.

ALONGI G., CORMACI M., PIZZUTO F., 1992. La macroflora epifita delle foglie di *Halophila stipulacea* (Forssk.) Aschers. del Porto di Catania. *Biol. Mar.* 1 : 287-288.

- BILIOTTI M., ABDELAHAD N., 1990. *Halophila stipulacea* (Forssk.) Aschers. (Hydrocaritaceae): espece nouvelle pour l'Italie. *Posidonia Newsletter* 3 (2) : 23-26.
- BLUNDO M. C., DI MARTINO V., GIACCONE G., 1999. La flora marina nell'area protetta dell'Isola di Vendicari" (Siracusa; Sicilia sud orientale). *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 31 (354) : 157-174.
- CHISHOLM J. R. M., FERNEX F., MATHIEU D., JAUBERT J. M., 1995. Links between sediment pollution and *Caulerpa taxifolia* proliferation. *App. Comm. int. Mer. Médit.* 34 : 24.
- CORMACI M., FURNARI G., ALONGI G., SERIO D., 1993. Tre interessanti ritrovamenti algologici nelle coste italiane. Atti X° Simposio Nacional De Botanica Criptogamica, Santa Cruz De Tenerife.
- DI MARTINO V., GIACCONE G., 1995a. *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützing: un'altra migrante lessepsiana arrivata in Sicilia. *Biol. Mar. Medit.* 3 (1) : 143-146.
- DI MARTINO V., GIACCONE G., 1995b. La dispersione in Mediterraneo di alghe tropicali del genere *Caulerpa*. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 28 (349) : 693-705.
- DI MARTINO V., GIACCONE G., 1995c. Biodiversità in associazioni dipendenti di epibionti vegetali in prati a Caulerpe nel Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit.* 3 (1) : 32-39.
- DI MARTINO V., GIACCONE G., 1996. La vegetazione a *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh nel Principato di Monaco. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 29 (351) : 169-183.
- DI MARTINO V., STANCANELLI B., 1998. *Isola di Capo Passero. Il Mare*. Ed. Ente Fauna Siciliana; *Ecopachynus* 2 : 63 pp.
- ERTAN O.O., TURNA I.I., CORMACI M., 1998. A new record for the marine algal flora of Turkey: *Caulerpa scalpelliformis* (Brown ex Turner) C. Agardh (Caulerpaceae, Chlorophyceae). *Tr. J. Botany* 2 : 285-287.
- FRADÀ-ORESTANO C., CALVO S., 1995. Diffusione di *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh nelle acque dello Stretto di Messina. *Biol. Mar. Medit.* 2 (2) : 645-647.
- FRADÀ-ORESTANO C., CALVO S., FERRERI B. M., 1994. First record of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh in the southwestern Mediterranean. *Giorn. Bot. Ital.* 128 (3/4) : 813-815.
- GAYOL P., FALCONETTI C., CHISHOLM J. R. M., JAUBERT J. M., 1995. Metabolic response of low-temperature-acclimated *Caulerpa taxifolia* (Chlorophyta) to rapidly elevated temperature. *Bot. Mar.* 38 : 61-67.
- GIACCONE G., 1969. Raccolte di fitobenthos sulla banchina continentale italiana. *Giorn. Bot. Ital.* 103 : 485-514.
- GIACCONE G., 1997. Phytosociologie et écologie des algues Caulerpes en Méditerranée. *Actes de "Séminaire International Dynamique d'espèces marines invasives: application à l'expansion de Caulerpa taxifolia"*, Académie des Sciences, Paris, 13/15.03.1997 : 131-144.
- GIACCONE G., COLONNA P., GRAZIANO C., MANNINO A. M., TORNATORE E., CORMACI M., FURNARI G., SCAMMACCA B., 1985. Revisione della flora marina di Sicilia e isole minori. *Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.* 18 (326) : 537-781.
- GIACCONE G., DI MARTINO V., 1995a. La vegetazione a *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützing nello Stretto di Messina (Sicilia Nord-Orientale). *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 28 (349) : 75-91.

GIACCONE G., DI MARTINO V., 1995b. La vegetazione a *Caulerpa racemosa* (Forsskäl) C. Agardh nella Baia di S. Panagia (Sicilia Sud-Orientale). *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 28 (349) : 59-73.

GIACCONE G., DI MARTINO V., 1997. Inquadramento fitosociologico ed ecologia della vegetazione a caulerpe in Mediterraneo. Atti del Convegno S.O.S. *Caulerpa?* Introduzione di nuove specie nel Mediterraneo e compatibilità con quelle presenti. Cagliari 25 Novembre 1996 : 69-86.

GIACCONE G., DI MARTINO V., 1998. Flora, vegetazione marina e stato dell'ambiente nell'area iblea. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 29 (352) : 359-391.

LÜNING K., 1990. *Seaweeds*. Ed. Wiley and Sons; New York : 527 pp.

MARINO G., DI MARTINO V., GIACCONE G., 1999a. Diversità della flora marina della penisola Maddalena (Siracusa, Sicilia S-E): cambiamento ventennale ed evoluzione. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 31 (354) : 289-315.

MARINO G., DI MARTINO V., GIACCONE G., 1999b. Vegetazione marina della Penisola Maddalena. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat.* 31 (354) : 235-287.

PÉRÈS J. M., PICARD J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Bull. Station Marine d'Endoume* 31 (47) : 137 pp.

PIAZZI L., BALATA D., CINELLI F., 2001. Incidence des Rhodophyceae exotiques *Acrothamnion preissii* et *Womersleyella setacea* sur le peuplement algal des rhizomes de *Posidonia oceanica*. *Fourth int. Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Le Direac'h L., Meinesz A., Scabbia G. & Verlaque M. eds., GIS Posidonie publ., France : 403-406.

POR F. D., 1981. The lessepsian biogeographic province of the Eastern Mediterranean. *Journées Étud. System. et Biogéogr. Médit. Cagliari. Rapp. P.V. Réun. Commiss. Explor. Sci. Mer Médit* : 81-84.

POR F. D., DIMENTMAN C., 1985. Continuity of Messinian biota in the Mediterranean basin. *Geological evolution of the Mediterranean basin*. Stanley D.J., Wezel F.C. eds. Springer Verlag publ., New York, USA : 545-557.

VERLAQUE M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanol. Acta* 17 (1) : 1-23.

VILLARI R., 1988. Segnalazioni Floristiche Italiane : 565. *Halophila stipulacea* (Forssk.) Aschers. (Hydrocharitaceae). Genere e Specie nuovi per l'Italia. *Inform. Bot. Ital.* 20 : 672.

INCIDENCE DES RHODOPHYCEAE EXOTIQUES *ACROTHAMNION PREISSII* ET *WOMERSLEYELLA SETACEA* SUR LE PEUPLEMENT ALGAL DES RHIZOMES DE *POSIDONIA OCEANICA*

Luigi PIAZZI, David BALATA & Francesco CINELLI

Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa - Via A. Volta 6, 56126
Pisa, Italie

ABSTRACT

In many localities of Italy and France, the development of the algal turfs composed of two introduced Rhodophyceae *Acrothamnion preissii* and *Womersleyella setacea* has caused disturbances in littoral benthic ecosystems. In the present work the occurrence of *A. preissii* and *W. setacea* on *Posidonia oceanica* rhizomes has been evaluated in 13 meadows of the seagrass distributed in the western Mediterranean. Results show that turfs have developed in all studied locations. *A. preissii* is present at Ustica and along the coasts between the Elba Island and the Balearic Islands, except Corsica and Sardinia. *W. setacea* is present in all studied localities except in Tunisia. The development of the turfs has caused a decrease in species diversity of algal communities on *P. oceanica* rhizomes.

RÉSUMÉ

En plusieurs localités de l'Italie et de la France, le développement de gazons constitués par les deux Rhodophyceae introduites *Acrothamnion preissii* et *Womersleyella setacea* a été la cause de bouleversements des écosystèmes marins littoraux. Avec ce travail, la présence de peuplements d'*A. preissii* et de *W. setacea* sur les rhizomes de *Posidonia oceanica* a été évaluée dans 13 herbiers de la Méditerranée occidentale. Les résultats de cette étude ont montré que le développement des gazons algaux concerne tout le bassin occidental de la Méditerranée à l'exception de la partie sud-orientale. *Acrothamnion preissii* est présent à Ustica et dans les herbiers compris entre l'île d'Elba et les îles Baléares à l'exception de la Corse et de la Sardaigne. *Womersleyella setacea* est présent dans toutes les localités étudiées à l'exception de la Tunisie. Le développement des gazons constitués par les deux espèces semble entraîner des effets négatifs sur les communautés benthiques, notamment une diminution de la diversité spécifique.

INTRODUCTION

Acrothamnion preissii (Sonder) Wollaston a été signalé pour la première fois en Méditerranée en 1969 à proximité du port de Livourne (Italie) (CINELLI & SARTONI, 1969) et il s'est ensuite propagé dans l'Archipel Toscan et le long des côtes ligures, françaises et espagnoles (FERRER *et al.*, 1994 ; VERLAQUE, 1994). *Womersleyella setacea* (Hollenberg) R.E. Norris a été récemment signalée en Méditerranée occidentale (VERLAQUE, 1989 ; AIROLDI *et al.*, 1995). En plusieurs localités de l'Italie et de la France, le développement de ces espèces a causé des bouleversements des écosystèmes marins littoraux. La constitution de gazons très compacts a abouti à l'élimination des

espèces algales autochtones, réduisant la diversité spécifique (AIROLDI *et al.*, 1994 ; PIAZZI *et al.*, 1996), et entraînant des conséquences négatives pour la pêche côtière (CINELLI *et al.*, 1984 ; VERLAQUE, 1989). Avec ce travail, l'étendue du développement des peuplements d'*A. preissii* et de *W. setacea* a été évaluée dans des herbiers de la phanérogame marine *Posidonia oceanica* (L.) Delile de la Méditerranée occidentale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Treize herbiers à *Posidonia oceanica* ont été choisis, dont cinq étaient situés le long des côtes continentales (Livourne, Baratti) et insulaires (Gorgona, Capraia, Elba) de la Toscane (Italie) et les autres dans des zones différentes de la Méditerranée occidentale (Tunisie, Pantelleria, Ustica, Civitavecchia, Sardaigne, Corse, Estérel, Baléares). Tous les relevés ont été effectués entre juin et août 1996 et 1997. Dans chaque herbier, dix faisceaux ont été prélevés à la profondeur de 10 mètres. L'abondance de chaque espèce macroalgale présente dans les relevés a été estimée par son recouvrement (Ri%) (pourcentage de la surface du relevé qu'elle couvre en projection). Les paramètres suivants ont été établis pour chaque échantillon : indice de diversité de Shannon-Weaver ($H' = \sum Ri/Rt \log_2 Ri/Rt$), Dominance Quantitative (DR% = $Ri/Rt \times 100$) relative à l'ensemble des autres espèces filamenteuses et, séparément, à *Acrothamnion preissii* et à *Womersleyella setacea* (BOUDOURESQUE, 1971).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montré que le développement des gazons algaux concerne tout le bassin occidental de la Méditerranée, à l'exception de la partie sud-orientale (Pantelleria, Civitavecchia, Tunisie) (fig. 1). *Acrothamnion preissii* est présent à Ustica et dans tous les herbiers compris entre l'île d'Elbe et les Baléares, à exception de la Corse et de la Sardaigne, et atteint les valeurs de DR% les plus élevées à Capraia (94.9). *Womersleyella setacea* est présente dans tous les herbiers étudiés, à l'exception de la Tunisie, avec un développement maximal en Sardaigne (DR% de 86.7). Le nombre d'espèces par relevé varie de 17.0 à Pantelleria à 5.0 en Sardaigne. La Dominance Quantitative des autres espèces filamenteuses montre une grande variabilité, liée surtout à la présence d'*A. preissii* et de *W. setacea*. Dans les herbiers où les deux espèces ne sont pas présentes ou ne constituent pas de vrais gazons, les valeurs varient entre 2.1 et 30.1. Au contraire, là où les deux espèces montrent un développement important, les valeurs de DR% sont toujours supérieures à 80 (fig. 2a). Les valeurs de l'indice de Shannon Weaver sont basses, variant de 2.05 en Tunisie à 0.19 à Meloria et sont corrélées de façon inversement proportionnelle à la DR% de l'ensemble des espèces filamenteuses. Dans les herbiers où le recouvrement des espèces filamenteuses est important (Corse, Sardaigne, Elba, Civitavecchia, Livourne, Baratti) les valeurs de diversité restent toujours inférieures à l'unité, alors que la diversité est supérieure à 1 dans les herbiers de Pantelleria, Civitavecchia et Tunisie où la DR% des gazons est basse (fig. 2b). Dans les stations où les deux espèces sont présentes *A. preissii* montre

une DR% plus élevée. Le développement des gazons semble entraîner des effets négatifs sur les communautés benthiques ; des zones colonisées, *A. preissii* et *W. setacea* ont tendance à constituer des peuplements monospécifiques. La comparaison de nos résultats avec des études précédentes (PANAYOTIDIS, 1980 ; BOUDOURESQUE *et al.*, 1979) montre que les deux espèces exotiques sont en expansion. Il est donc nécessaire de continuer l'étude des gazons, pour mieux connaître les mécanismes de propagation et pour chercher à mieux comprendre l'évolution du phénomène.

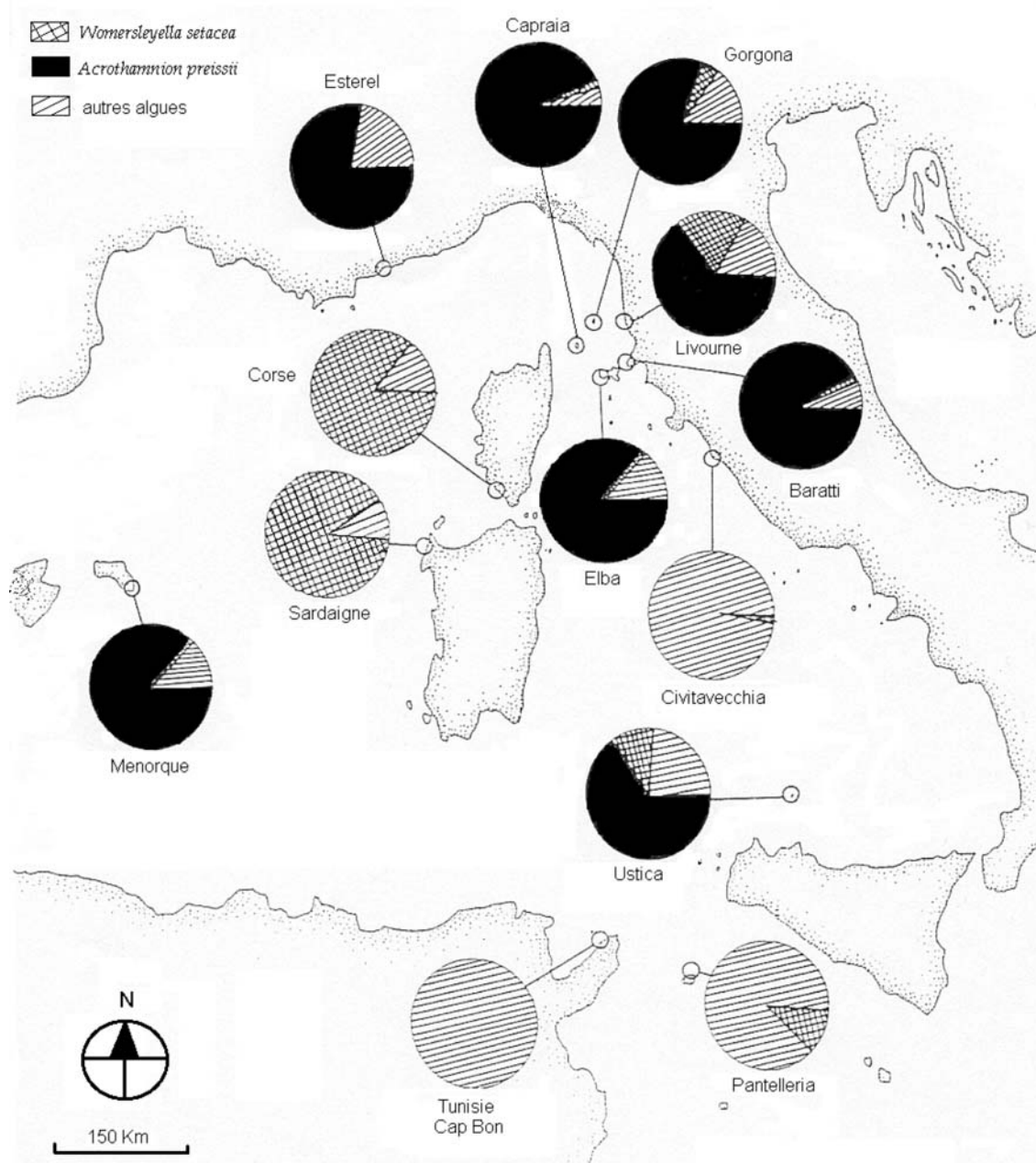


Figure 1. Dominance quantitative d'*Acrothamnion preissii* et de *Womersleyella setacea* dans les communautés algales des rhizomes de *Posidonia oceanica*.

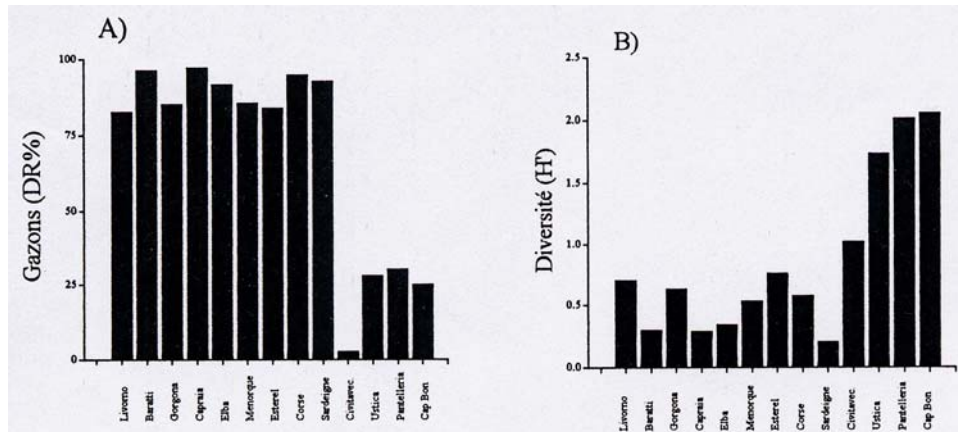


Figure 2. Dominance quantitative des algues gazonnantes (A) et indice de diversité (B) des communautés algales des rhizomes de *Posidonia oceanica*.

REFERENCES

- AIROLDI L., RINDI F., CINELLI F., 1994. Structure of a subtidal algal assemblage dominated by *Polysiphonia setacea* Hollenberg in Western Mediterranean. *Giorn. Bot. Ital.* 128 : 782-783.
- AIROLDI L., RINDI F., PIAZZI L., CINELLI F., 1995a. Distribuzione di *Polysiphonia setacea* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) Hollenberg in Mediterraneo e possibili modalità di diffusione. *Biologia marina mediterranea* 2 (2) : 343-344.
- BOUDOURESQUE, C.F., 1971. Méthodes d'étude qualitative et quantitative du benthos (en particulier du phytobenthos). *Tethys* 3 (1) : 79-104.
- BOUDOURESQUE C.F., CINELLI F., FRESI E., MAZZELLA L., RICHARD M., 1979. La sous-strate algale de l'herbier de *Posidonia oceanica* (L.) Delile : étude de la courbe aire/espèce. *Rapp. P. V Réunion. Comm. int. Expl. Sci. Mer Médit.* 25-26 (4) : 205-207.
- CINELLI F., SALGHETTI-DRIOLI U., SERENA F., 1984. Nota sull'areale di *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston nell'alto Tirreno. *Quad. Mus. Stor. Nat. Livorno* 5 : 57-60.
- CINELLI F., SARTONI G., 1969. *Acrothamnion* J. Ag. (Rhodophyta, Ceramiaceae) : genere algale nuovo per il mare Mediterraneo. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 37 : 567-574.
- FERRER E., RIBERA M.A., GOMEZ-GARRETA A., 1994. The spread of *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston (Rhodophyta, Ceramiaceae) in the Mediterranean Sea : new record from the Balearic Islands. *Flora Mediterranea* 4 : 163-166.
- PANAYOTIDIS P., 1980. Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'association *Posidonietum oceanicae* Funk 1927. *Thèse de Doctorat*, Univ. Aix-Marseille II, France : 213 pp.
- PIAZZI L., PARDI G., CINELLI F., 1996. Ecological aspects and reproductive phenology of *Acrothamnion preissii* (Sonder) Wollaston (Ceramiaceae, Rhodophyta) in the Tuscan Archipelago (western Mediterranean). *Cryptogamie, Algol.* 17 (1) : 35-43.
- VERLAQUE M., 1989. Contribution à la flore des algues marines de la Méditerranée : espèces rares ou nouvelles pour les côtes françaises. *Bot. Mar.* 32 : 101-113.
- VERLAQUE, M., 1994. Inventaire des plantes introduites en Méditerranée : origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanol. Acta* 17 (1) : 1-23.