

ETUDE RELATIVE AUX PICOCYANOBACTÉRIES

ABOUT PICOCYANOBACTERIA

CAMPAGNE 2018

PAR

STÉPHAN JACQUET

INRA-UMR/CARTELE, 75 avenue de Corzent, 74200 Thonon-les-Bains, France

RÉSUMÉ

Les picocyanobactéries sont une composante du phytoplancton ayant été négligée jusqu'alors peu de leur petite taille (<2-3 μm). La distribution et la dynamique de cette communauté est proposée à partir de l'analyse de leur abondance par cytométrie en flux. L'étude portant sur les 5 dernières années, de 2014 à 2018, révèle de fortes abondances (par comparaison avec les concentrations cellulaires de la plupart des autres organismes phytoplanctoniques) dépassant 10^5 cellules mL^{-1} en période estivale. La biomasse relative de cette communauté, représentative majoritaire du picophytoplancton, reste modeste comparativement à celle du nano- et du microphytoplancton, ne dépassant pas 10% en moyenne à l'échelle de l'année. Toutefois, à certaines périodes de l'année (été et automne typiquement) et à certaines profondeurs la biomasse des picocyanobactéries peut égaler voire dépasser celle des formes planctoniques plus grosses. Une comparaison est proposée avec les grands lacs péri-alpins voisins d'Annecy et du Bourget.

ABSTRACT

Picocyanobacteria are a component of the phytoplankton having been neglected until then because of their small size (< 2-3 μm). Distribution and dynamics of this community is proposed based on the analysis of their abundance by flow cytometry. The study on the last 5 years, from 2014 to 2018, reveals high abundances of this community exceeding 10^5 cells mL^{-1} during the summer. The relative biomass of this major representative community of the picoplankton remains modest compared to the nano - and microphytoplankton, not more than 10% on average across the year. However, at certain times of the year (e.g. summer and fall) and to certain depths the picoplanktonic biomass can match or even exceed that of the larger planktonic forms.

1. INTRODUCTION

Prendre en compte la structure en taille des communautés phytoplanctonique (pico-, nano-, micro-phytoplancton) dans la compréhension du fonctionnement écologique des milieux aquatiques est donc particulièrement pertinent, le picoplancton étant susceptible d'être un indicateur trophique, fonctionnel et/ou en réponse aux changements globaux (e.g. la température).

Les dénombrements phytoplanctoniques effectués en microscopie dans le cadre du suivi écologique des lacs ne permettent pas d'identifier et quantifier précisément la part des espèces de très petite taille (appartenant au picoplancton) qui incluent notamment et majoritairement les picocyanobactéries. Ces dernières sont des espèces unicellulaires de cyanobactéries de taille <2-3 μm , à priori non toxiques, qui possèdent des avantages compétitifs sur les plus grosses cellules (vis-à-vis de l'utilisation des ressources nutritives et de la lumière, typiquement). En effet, les espèces de petite taille ont un ratio surface/volume plus important, ce qui entraîne une vitesse de sédimentation plus faible et une absorption plus efficace des nutriments (Raven 1998).

Les picocyanobactéries sont prédominantes au sein du picophytoplancton et particulièrement bien représentées dans les grands lacs péri-alpins (Personnic *et al.* 2009, Domaizon *et al.* 2013, Zhong *et al.* 2013, Jacquet *et al.* 2016,). D'autres formes picoplanctoniques, appartenant aux eucaryotes (e.g. *Chlorella* spp), sont également présentes et souvent dénombrées comme un seul groupe (faute de distinction morphologique claire) et inclus dans le nanophytoplancton. Dans la suite de ce rapport, seules les picocyanobactéries sont prises en compte.

Dans les écosystèmes pauvres à moyennement riches en nutriments (mésio-oligotrophes), les picocyanobactéries sont toujours observées et susceptibles de participer significativement, au moins à certains moments de l'année et en zone épilimnique, à la production primaire totale, et donc au soutien de la production secondaire zooplanctonique (Ammini *et al.* 2014, Jacquet *et al.* 2016).

Pour donner un ordre d'idées, les données acquises par S. Jacquet (INRA CARTELE) sur la période s'étalant de 2003 à 2018, montrent que la proportion des picocyanobactéries (en termes de biomasse) fluctue entre 3 et 45% de la biomasse phytoplanctonique totale dans le lac d'Annecy (oligotrophe) mais n'excède pas 15% au lac du Bourget (oligo-mésotrophe). La proportion de ce groupe peut occasionnellement être équivalente, voire dépasser celle des formes nano- et microphytoplanctoniques, en particulier au début du printemps et au milieu de l'été. Les picocyanobactéries sont aussi par ailleurs susceptibles de réagir positivement au réchauffement de la masse d'eau, y compris en système oligo-mésotrophe (Jacquet non publié).

Il est proposé au sein de ce chapitre de décrire l'évolution (i) des abondances de la communauté picocyanobactérienne dans le Léman, considérées à 6 profondeurs différentes (de la surface à 50 m de profondeur) et mises en relation avec les principaux facteurs environnementaux pour l'année 2018, (ii) des abondances moyennes des picocyanobactéries au sein du lac (intégrées entre la surface et 18 m de profondeur) permettant de révéler leur importance quantitative et leur dynamique depuis 2014 inclus (première année du suivi des picocyanobactéries au Léman) comparativement au phytoplancton total et (iii) la proportion en terme de biomasse du pico-, nano- et microphytoplancton, et ce, aussi, comparativement aux lacs du Bourget et d'Annecy pour révéler et comparer l'importance du compartiment picophytoplanctonique au sein de ces lacs.

2. MÉTHODES

Cytométrie en flux

Les abondances picocyanobactériennes dans le Léman sont mesurées aux profondeurs suivantes : 2.5, 10, 15, 20, 30 et 50 m ainsi que sur un échantillon d'eau intégré 0-18 m (en lien avec le suivi phytoplanctonique classique –Rimet 2019).

L'analyse de ce compartiment biologique est rendue possible grâce à la cytométrie en flux, une technique qui permet de compter et d'étudier rapidement de nombreuses caractéristiques d'un grand nombre de cellules ou particules (plusieurs dizaines de milliers) placées en suspension dans un liquide et qui vont être considérées une par une. Empruntée au domaine médical et appliquée à l'Océanographie (dès 1985), la cytométrie en flux a notamment permis de découvrir l'organisme (procaryote) photosynthétique le plus petit et le plus abondant de l'océan mondial (e.g. *Prochlorococcus*, Chisholm *et al.* 1988) et aussi le plus petit eucaryote photosynthétique, *Ostreococcus tauri* (Courties *et al.* 1994). Depuis cette époque, cette technique est devenue incontournable et constitue un outil d'analyse rapide et fiable particulièrement bien adapté au comptage et à l'étude des petits organismes phytoplanctoniques, bactériens et viraux en milieux marin et d'eau douce. Le

principe de fonctionnement est basé sur la mise en suspension des cellules ou particules que l'on veut étudier dans un milieu liquide. Les cellules sont poussées par un fluide liquide, ici de l'eau milliQ, à travers un système de pompe et envoyées une à une (après leur alignement) devant un (ou plusieurs) faisceau(x) laser qui permet (tent), en plus de les compter, de mesurer ou d'évaluer certains paramètres cellulaires : taille, volume, granulométrie, fluorescence, etc ... Différents paramètres vont donc être observés : la lumière diffractée mesurée en face du rayon laser permet d'évaluer la taille des cellules (**FSC**) ; la lumière diffractée, mesurée sur le côté à 90° (**SSC**) donne une mesure de la granularité de la cellule qui correspond à la complexité de la cellule (densité des organites, irrégularités internes ou de surface). Ces deux paramètres (FSC et SSC) sont donc globalement proportionnels à la taille et à la complexité des cellules. Cela permet un premier tri des catégories cellulaires, mais ne suffit pas pour une reconnaissance précise. Pour le phytoplancton, la chlorophylle, la phycocyanine ou encore la phycoérythrine sont des pigments qui permettent de discriminer différentes populations (Fig. 1). Les intensités lumineuses mesurées sont très faibles, les détecteurs utilisés sont des photomultiplicateurs. L'appareil est relié à un ordinateur qui enregistre les données et affiche les résultats des mesures. L'analyse finale peut être opérée sur son propre PC à partir de logiciels dédiés.

Analyse statistique

Une analyse en composantes principales ou ACP est proposée à partir d'un nombre limité de variables prises aux profondeurs suivantes (2.5, 10, 15, 20, 30 et 50 m) afin de déterminer les facteurs principaux intervenant dans la distribution et la dynamique observées de la communauté des picocyanobactéries. Le seuil de significativité des corrélations a été fixé à 99%.

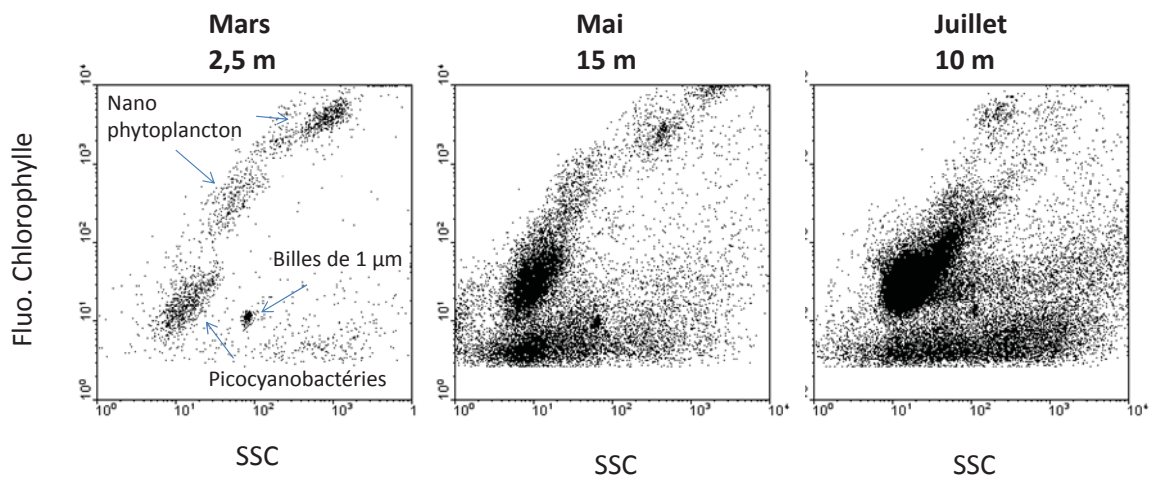


Figure 1 : Exemples de cytogrammes (représentations biparamétriques) révélant notamment la communauté des picocyanobactéries à différentes profondeurs et dates en 2018 dans le Léman à la station SHL2. SSC signifie side scatter et correspond à un paramètre relatif à la taille, à la forme et à l'indice de réfraction des cellules.

Figure 1 : Examples of cytograms (biparametric representations) showing the picocyanobacterial community for different depths at different periods of the year in Lake Geneva. SSC corresponds to Side SCatter and is a proxy of cell size, shape and refractive index.

RÉSULTATS POUR L'ANNÉE 2018

La dynamique de la communauté picocyanobactérienne observée en 2018 (Fig. 2) révèle une saisonnalité marquée avec des concentrations cellulaires augmentant pendant le printemps et l'été, mais aussi au début de l'automne, avant de diminuer à la fin de l'automne et en hiver. Les valeurs maximales ont été observées de mi juillet à fin août, mais aussi mi octobre, avec plus de 10^5 cellules/mL. En 2018, les concentrations cellulaires les plus élevées (i.e. $>10^5$ cellules/mL) ont d'abord été enregistrées une fois à 10 m le 15 juin, puis à 2,5 et 10 m mi juillet et à 2,5, 10 et 15 m fin août. Ces concentrations ont également été enregistrées fin octobre à 2,5 et 10 m. La concentration cellulaire des picocyanobactéries reste bien visible et marquée toute l'année sur la tranche d'eau 0-50 m.

Pour l'année 2018, la proportion des picocyanobactéries en termes de biomasse a été, pour la strate 0-18 m, de 6,1 % (valeur en légère baisse par rapport à 2017 qui était de 7%), contre 25,1 % pour le nano- et 68,8 % pour le microphytoplancton. Comparativement, les proportions picocyanobactériennes ont été de 6,9 % et 41,4 % aux lacs du Bourget et d'Annecy, respectivement.

Dans le détail, les picocyanobactéries ont représenté jusqu'à 21 % de la biomasse au mois d'août (25% en 2017 et 40 % en 2016, valeur maximale atteinte au cours des 5 années étudiées) sur la tranche d'eau intégrée 0-18 m. Seule autre période de l'année où ils ont été représenté de manière significative a été fin octobre (31 %).

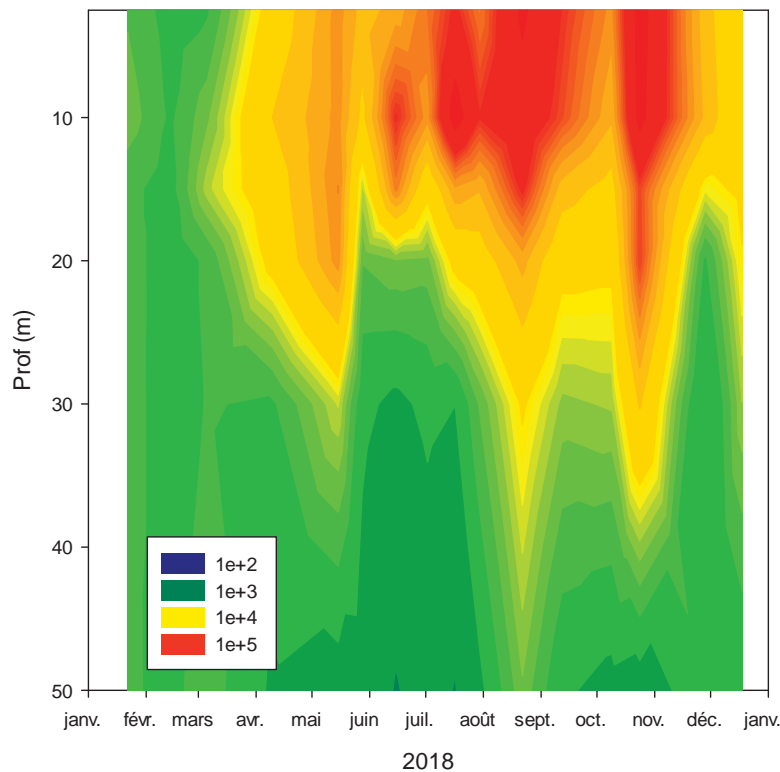


Figure 2 : Distribution et dynamique des picocyanobactéries (en cellules / mL) en 2018 entre la surface et 50 m de profondeur dans le Léman à la station SHL2. $1e+2 = 100$; $1e+5 = 100\ 000$.

Figure 2 : Distribution and dynamics of picocyanobacteria (in cells / mL) in 2018 between surface and 50 m deep in Lake Geneva.

Une analyse en composantes principales pour déterminer les liens existant entre certains facteurs physico-chimiques et la dynamique et distribution de cette communauté (notée « picocyanos » ci-dessous) a été conduite pour l'année 2018 ($n=96$; Fig. 3). La variance totale expliquée à partir des deux principaux axes est élevée, soit 69,6 %. On constate que la température (notée Temp) est un facteur clef ($r=0,80$; $p<0,01$), ce que des expériences au laboratoire avec des cultures de picocyanobactéries isolées des grands lacs péri-alpins ont confirmé avec un optimum de croissance entre 20 et 25°C (Reymann & Jacquet, 2015 - non publié).

La variable « profondeur » notée « prof » peut être considérée comme un proxy (indicateur) de la lumière et une relation négative existe entre les picocyanobactéries et la profondeur ($r=-0,68$; $p<0,01$). Pour les nutriments on note une relation négative faible avec les phosphates ($r=-0,36$; $p<0,01$) et plus marquée avec les nitrates ($r=-0,75$; $p<0,01$), suggérant une nouvelle fois que la communauté des picocyanobactéries est un bon indicateur du statut trophique du milieu. L'ensemble de ces résultats souligne aussi le besoin de la mise en place d'études expérimentales au laboratoire à partir de cultures afin d'apprécier l'effet des différents nutriments, typiquement NO_3 vs NH_4 , sur la croissance des picocyanobactéries.

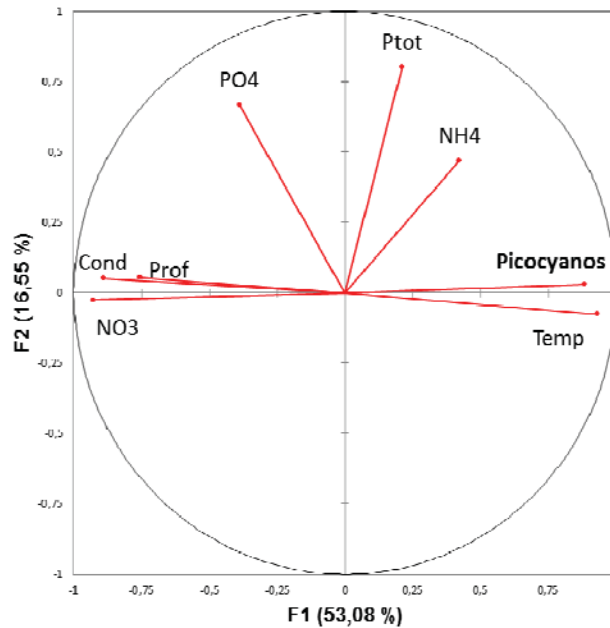


Figure 3 : Analyse en composantes principales (ACP) effectuée avec quelques paramètres physico-chimiques, observées entre la surface et 50 m, sur l'ensemble de l'année 2018 dans le Léman, à la station SHL2. Le pourcentage de variance expliquée est relativement important pour l'axe 1

Figure 3 : Principal Component Analysis with a selection of a few parameters in 2018, for the depths between the surface and 50 m, in Lake Geneva (Station SHL2). The percentage of explained variance is relatively high for the first axis

EVOLUTION DEPUIS 2014

Depuis 2014, on observe que les concentrations annuelles moyennes des picocyanobactéries dans la zone 2,5-20 m ou 0-18 m dépassent régulièrement les 10^5 cellules/mL. Ces concentrations cellulaires régulièrement élevées (comparativement à la plupart des autres populations du phytoplancton) sont surtout observées autour de la période estivale, les concentrations maximales étant observées de juin à octobre (Fig. 4).

En 2017, on avait observé une période de développement étroite et concentrée sur la période estivale (surtout août) mais en 2018, de fortes abondances cellulaires ont aussi été observées plus tard dans l'année, en octobre. Les raisons de cette dynamique ne sont pas claires pour le moment (la sécheresse et les températures clémentes très tard dans la saison étant une piste à explorer).

La distribution des picocyanobactéries révèle sur les 5 dernières années que la zone où les concentrations cellulaires sont les plus élevées reste la zone épilimnique (0-15 m). Les raisons à cette distribution restent également à être expliquées mais il apparaît clair que des paramètres comme la température et la lumière jouent sans nul doute un rôle clef comme pour l'ensemble du phytoplancton (Fig. 5).

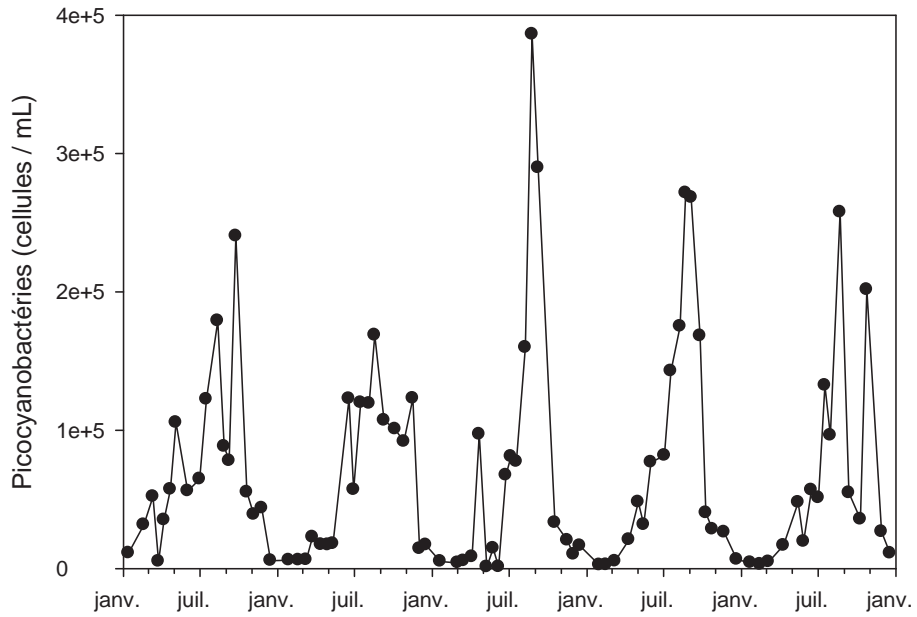


Figure 4 : Evolution des concentrations de picocyanobactéries (en cellules / mL) moyennes entre 2,5 et 20 m de 2014 à 2018 inclus, dans le Léman, à la station SHL2

Figure 4 : Mean values of picocyanobacterial concentrations (in cells / mL) between 2.5 and 20 m depth from 2014 to 2018.

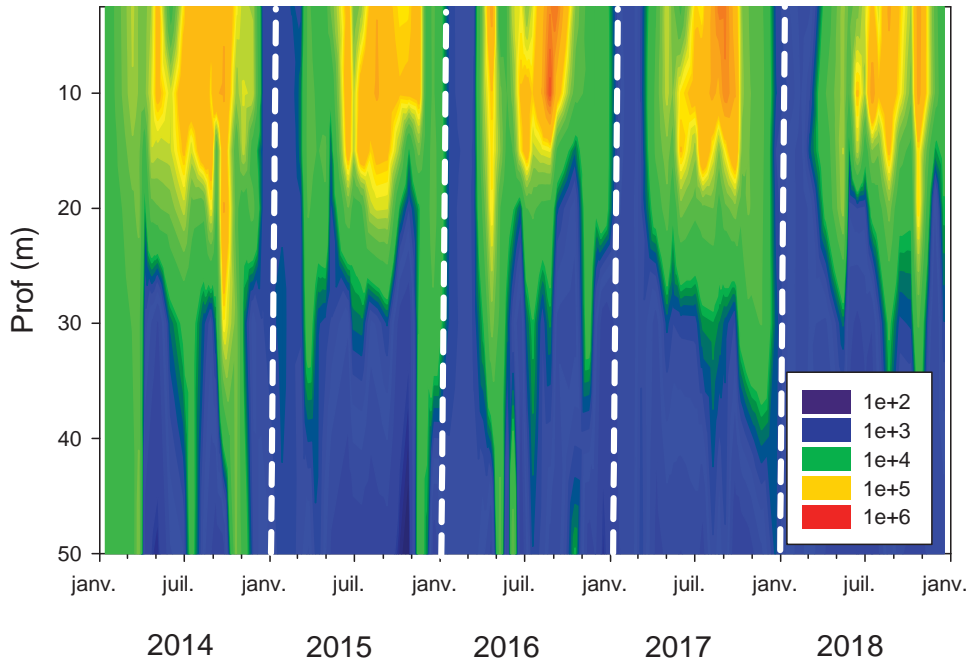


Figure 5 : Evolution des concentrations de picocyanobactéries de 2.5 à 50 m de 2014 à 2018 inclus, dans le Léman, à la station SHL2.

Figure 5 : Picocyanobacterial concentrations between 2.5 and 50 m depth from 2014 to 2018 at the SHL2 station.

Sur la période de 2014 à 2018, la proportion (en termes de biomasse) des picocyanobactéries fluctue entre 5,6 (en 2014) et 10,1% (en 2016) révélant de fortes disparités interannuelles (Fig. 6). L'année 2018 ressemble à 2017 avec une proportion significativement plus basse que 2016 et comparable à 2014, autour des 6-7%. Le nombre de données reste à ce jour limité (5 ans) et seul le suivi à long terme de cette communauté permettra de confirmer (i) que la proportion picocyanoplantonique augmente avec la réoligotrophisation du lac, comme cela est observé au lac du Bourget, en association avec la hausse des températures des eaux de surface et (ii) que ce groupe indique une amélioration du statut trophique et plus globalement de la qualité des eaux du lac associé à un changement de son fonctionnement écologique (Reymann & Jacquet 2015).

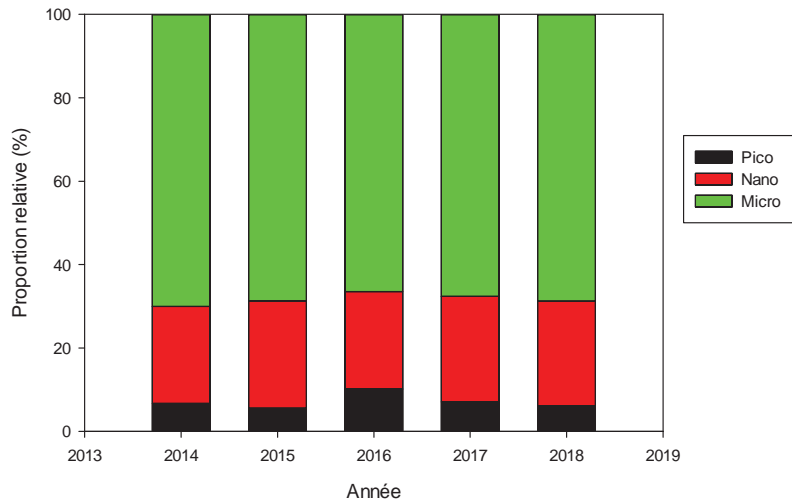


Figure 6 : Evolution de la proportion (en %) de biomasse des compartiments pico-, nano- et microphytoplanctoniques dans le Léman pour la période 2014-2018 entre 0 et 18 m.

Figure 6 : Evolution of the average proportion (in %) of the pico-, nano- and microphytoplankton biomass in Lake Geneva for the period 2014-2018.

La comparaison avec les deux autres lacs permet de constater, sur la période 2014-2018, une plus forte concordance entre les lacs Léman et du Bourget, comparativement à Annecy plus oligotrophe et restauré depuis plus longtemps (Fig. 7).

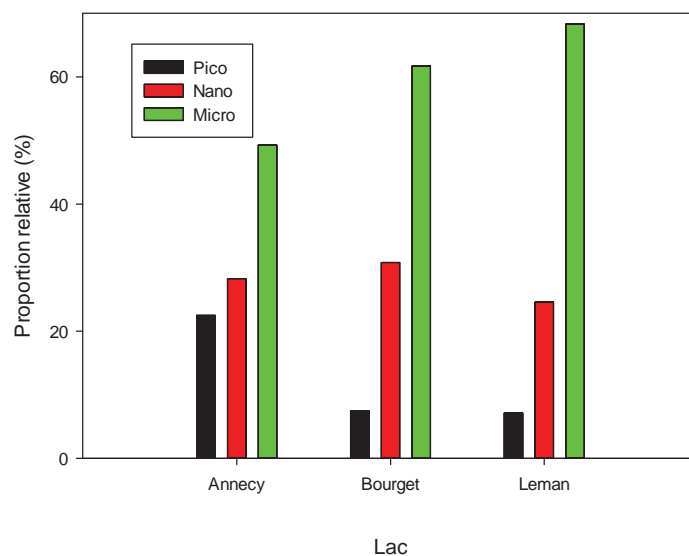


Figure 7 : Evolution de la proportion (en %) de biomasse des compartiments pico-, nano- et microphytoplanctoniques dans les lacs Léman, d'Annecy et du Bourget pour la période 2014-2018.

Figure 7 : Evolution of the average proportion (in %) of the pico-, nano- and microphytoplankton biomass in Lakes Annecy, Bourget and Geneva for the period 2014-2018.

3. CONCLUSION

Le picophytoplancton, majoritairement représenté par les picocyanobactéries, est une composante importante du phytoplancton présent dans le Léman. En plus de son rôle fonctionnel dans la production primaire globale de l'écosystème ou en tant que communauté proie potentielle pour le zooplancton uni- et pluricellulaire, le suivi détaillé de ce compartiment sur le long terme devrait confirmer que ce groupe est un bon indicateur de l'évolution du statut trophique de l'écosystème mais aussi peut être de sa réponse au réchauffement climatique, c'est-à-dire à l'augmentation des températures des eaux de surface du Léman.

BIBLIOGRAPHIE

- Ammini P, Zhong X, Angia Sriram PR, Jacquet S. 2014. Dynamics of auto- and heterotrophic picoplankton and associated viruses in Lake Geneva. *Hydrology and Earth System Sciences Discussion* 18, 1073-1084
- Chisholm SW, Olson RJ, Zettler ER, Goericke R, Waterbury JB, Welschmeyer NA. 1988. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone. *Nature* 334, 340-343
- Courties C, Vaquer A, Trousselier M, Lautier J, Chrétiennot-Dinet MJ, Neveux J, Machado C, Claustre H. 1994. Smallest eukaryotic organism. *Nature* 370, 255
- Domaizon I, Savichtcheva O, Debroas D, Arnaud F, Villar C, Pignol C, Alric B, Perga ME. 2013. DNA from lake sediments reveals the long-term dynamics and diversity of *Synechococcus* assemblages. *Biogeosciences* 10, 3817-3838
- Jacquet S, Barbet D, Barbier C, Cachera S, Colon M, Espinat L, Girel C, Guillard J, Hamelet V, Hustache JC, Lacroix D, Laine L, Leberre B, Neasat J, Paolini G, Perga ME, Perney P, Rimet F. 2016. Suivi environnemental des eaux du lac du Bourget pour l'année 2015. Rapport INRA-CISALB-CALB, 205 pages
- Perga ME, Barbier C, C M, Frossard V, Guillard J, Hamelet V, Jacquet S, Lainé L, Lasne E, Rimet F. 2016. Suivi de la qualité des eaux du lac d'Annecy. Rapport 2015. SILA (éd.) et INRA-Thonon, 123 pages et dossiers
- Personnic S, Domaizon I, Dorigo U, Berdjeb L, Jacquet S. 2009. Seasonal and spatial variability of virio, bacterio- and picophytoplanktonic abundances in three peri-alpine lakes. *Hydrobiologia* 627, 99-111
- Raven JA. 1998. Small is beautiful. The picophytoplankton. *Functional Ecology* 12, 503-513
- Reymann Q, Jacquet S. 2015. Importance des facteurs environnementaux sur la croissance, la dynamique et la distribution des picocyanobactéries lacustres. Master 2 Biologie des micro-organismes spécialité micro-organismes, Université de Strasbourg
- Rimet F. 2019. Le phytoplancton du Léman. Rapport CIPEL pour l'année 2018
- Zhong X, Berdjeb L, Jacquet S. 2013. Temporal dynamics and structure of picocyanobacteria and cyanomyoviruses in two large and deep peri-alpine lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 86, 312-326