

ETUDE RELATIVE AUX PICOCYANOBACTÉRIES

ABOUT PICOCYANOBACTERIA

CAMPAGNE 2017

PAR

Stéphan JACQUET

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

RÉSUMÉ

Les picocyanobactéries sont une composante du phytoplancton ayant été négligée jusqu'alors en raison 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 4 dernières années, de 2014 à 2017, révèle de fortes abondances 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 (début du printemps et été typiquement) et à certaines profondeurs la biomasse des picocyanobactéries peut égaler voire dépasser celle des formes planctoniques plus grosses.

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 3 years, from 2014 to 2017, 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. early spring and in summer) and to certain depths the picoplanktonic biomass can match or even exceed that of the larger planktonic forms.

1. INTRODUCTION

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).

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 tout 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, 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 CARRTEL) sur la période s'étalant de 2003 à 2017, montrent que la proportion des picocyanobactéries (en termes de biomasse) fluctue entre 2,5 et 43,2% de la biomasse phytoplanctonique totale dans le lac d'Annecy mais n'excède pas 15% au lac du Bourget. 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 par ailleurs susceptibles de réagir positivement au réchauffement de la masse d'eau, y compris en système oligo-mésotrophe.

Prendre en compte la structure en taille des communautés phytoplanctonique (pico-, nano-, microphytoplancton) 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).

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 2017, (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 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 2018).

L'analyse de ce compartiment biologique est rendue possible grâce à la cytométrie en flux, une technique qui permet de compter et 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 les années 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 qui est de l'eau milliQ par 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... Différents paramètres vont donc être obtenus : 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, des 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 dynamique observées de la communauté des picocyanobactéries. Le seuil de significativité des corrélations a été fixé à 99%.

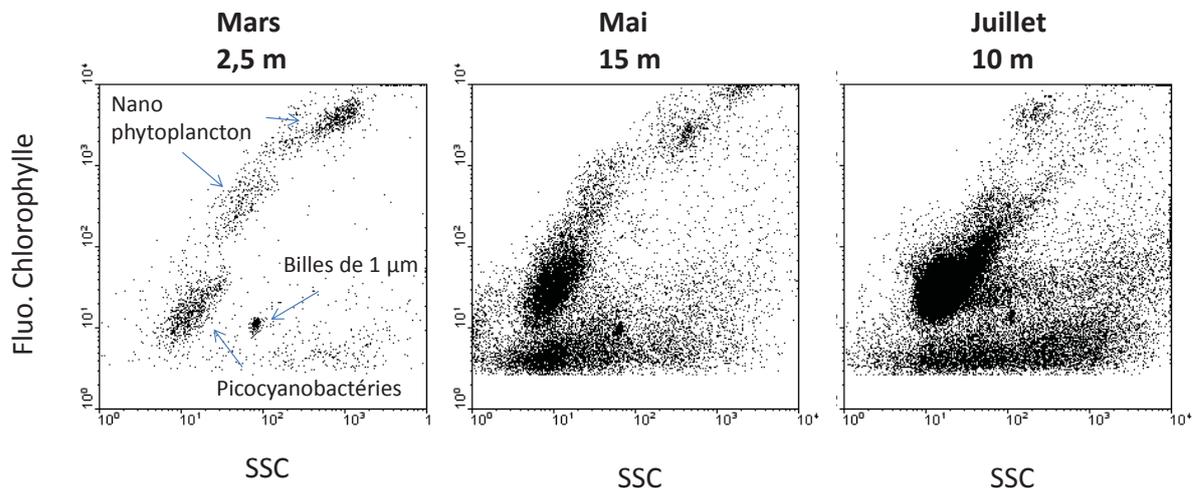


Figure 1 : Exemples de cytogrammes (représentations biparamétriques) révélant notamment la communauté des picocyanobactéries à différentes profondeurs et dates dans le Léman. SSC signifie side scatter et correspond à un paramètre relatif à la taille, à la forme et à l'indice de réfraction des cellules.

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.

3. RÉSULTATS POUR L'ANNÉE 2017

La dynamique de la communauté picocyanobactérienne révèle une saisonnalité marquée avec des concentrations cellulaires augmentant pendant le printemps et l'été, avant de diminuer à l'automne et en hiver. Les valeurs maximales ont été observées fin août, début septembre, comme en 2016, avec plus de 4×10^5 cellules/mL (Fig. 2). En 2017, les concentrations cellulaires les plus élevées (i.e. $>10^5$ cellules/mL) ont d'abord été enregistrées à 15 m le 1^{er} juin, puis à 10 et 15 m en juillet et à 2,5 et 10 m en août et septembre. Les picocyanobactéries sont visibles toute l'année et leur concentration cellulaire reste bien marquée toute l'année sur la tranche d'eau 0-50 m.

Pour l'année 2017, la proportion des picocyanobactéries en termes de biomasse a été de 7,0 %, contre 25,3 % pour le nano- et 67,6 % pour le microphytoplancton. Comparativement, les proportions picocyanobactériennes ont été de 9,9 % et 22,6 % aux lacs du Bourget et d'Annecy, respectivement.

Dans le détail, les picocyanobactéries ont représenté jusque 26 % de la biomasse au début du mois d'août (contre 40 % l'an passé) sur la tranche d'eau intégrée 0-18 m. D'autres périodes de l'année où il a été représenté de manière significative ont été fin août (17,9 %) et fin septembre (16,1 %).

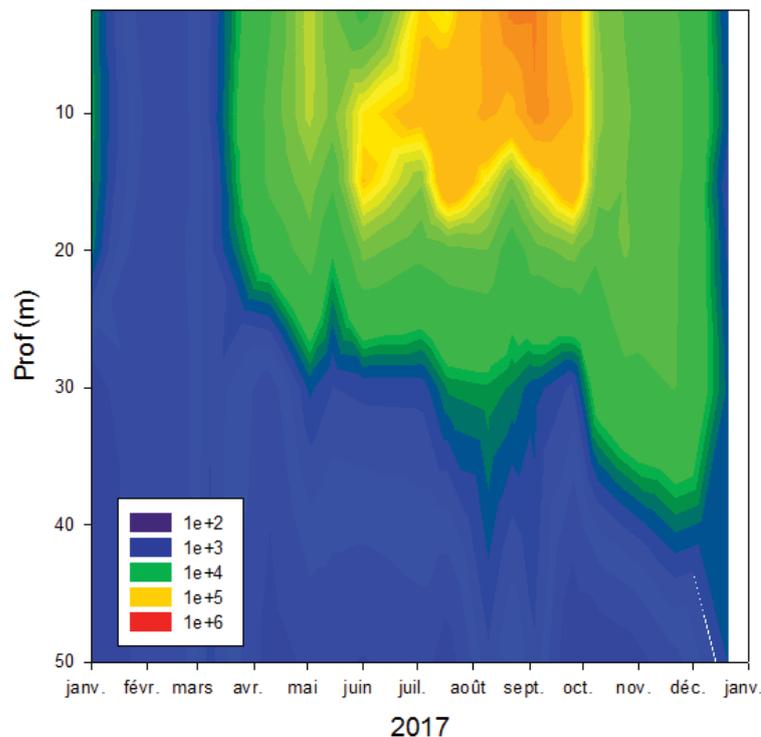


Figure 2 : Distribution et dynamique des picocyanobactéries (en cellules / mL) en 2017 entre la surface et 50 m de profondeur dans le Léman.

Figure 2 : Distribution and dynamics of picocyanobacteria (in cells / mL) in 2017 between surface and 50 m deep in Lake Geneva.

Une analyse en composantes principales pour déterminer les liens existants entre certains facteurs environnementaux et la dynamique et distribution de cette communauté (notée « picocyanos » ci-dessous) a été conduite pour l'année 2017 (n=102 ; Fig. 3). La variance totale expliquée à partir des deux principaux axes est élevée, soit 66.4 %. On constate que la température (notée Temp) est un facteur clef ($r=0,74$; $p<0,01$), 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 « depth » peut être considérée comme un proxy de la lumière et une relation négative existe entre les picocyanobactéries et la profondeur ($r=-0,4$; $p<0,01$; corrélation de Pearson). Il n'existe pas de relations positives marquées en 2017 entre les nutriments et les picocyanobactéries.

On note toutefois une relation négative faible avec les phosphates ($r=-0,3$; $p<0,01$) et plus marquée avec les nitrates ($r=-0,67$; $p<0,01$), suggérant une nouvelle fois que la communauté des picocyanobactéries est un bon indicateur de qualité. 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.

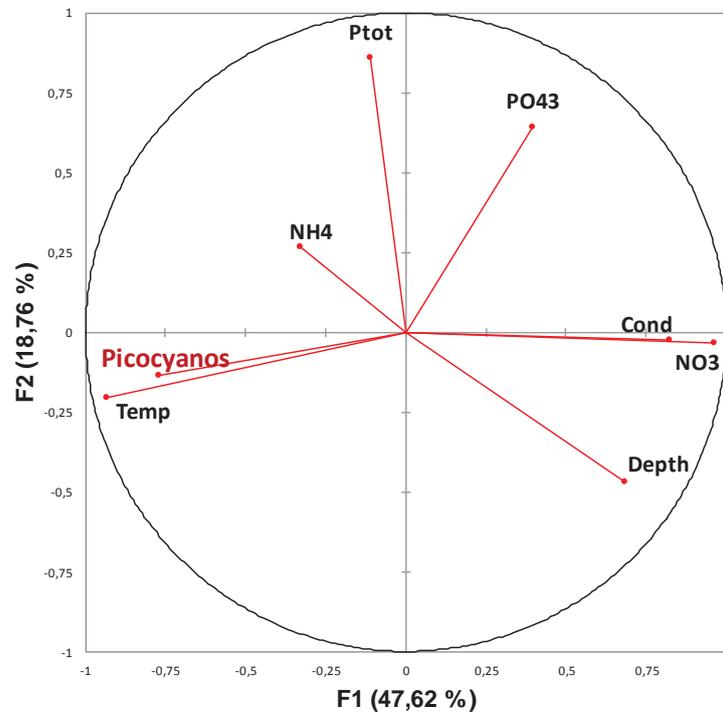


Figure 3 : Analyse en composantes principales (ACP) effectuée avec quelques paramètres sur l'ensemble de l'année 2017.

Figure 3 : Principal Component Analysis with a selection of a few parameters in 2017.

4. EVOLUTION DEPUIS 2014

Les concentrations annuelles moyennées des picocyanobactéries sur la zone 2,5-20 m ou 0-18 m dépassent régulièrement les 10^5 cellules/mL. Ces fortes valeurs sont surtout enregistrées pendant la période estivale, les concentrations maximales étant généralement observées en juillet-août-septembre. (Fig. 4).

En 2017, on observe une période de développement étroite et concentrée sur la période estivale (surtout août) et cette abondance estivale a aussi été la seconde plus élevée sur les 4 années. Les raisons à cette dynamique restent à être expliquées dans le détail.

La distribution des picocyanobactéries révèle sur les 4 années que la zone la plus concentrée reste la zone épilimnique (0-15 m). Les raisons à cette distribution restent également à être expliquées (Fig. 5).

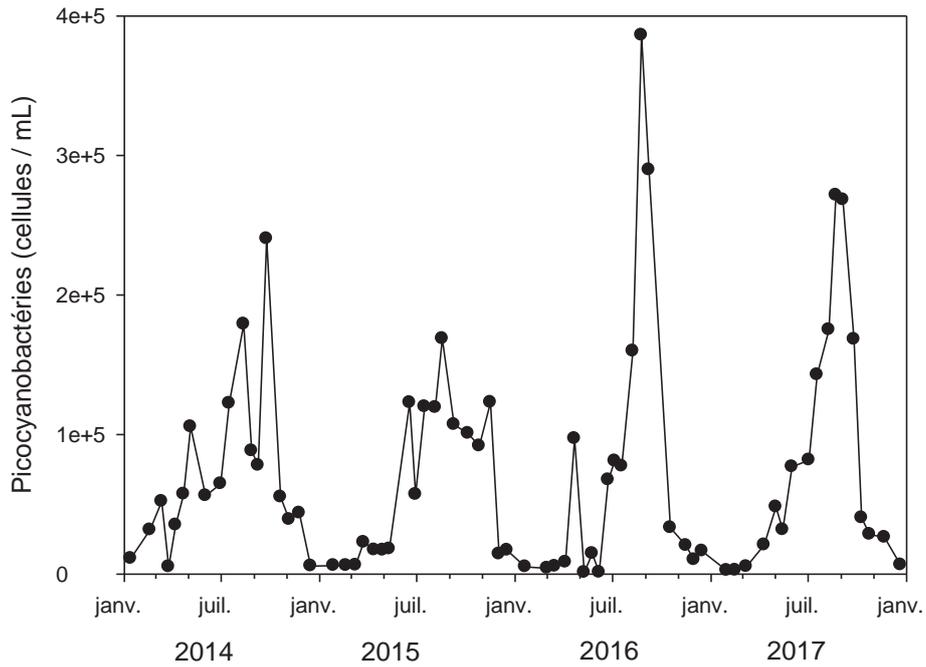


Figure 4 : Evolution des concentrations de picocyanobactéries (en cellules / mL) moyennées entre 2,5 et 20 m entre 2014 et 2017 inclus.
Figure 4 : Mean values of picocyanobacterial concentrations (in cells / mL) between 2.5 and 20 m depth from 2014 to 2017.

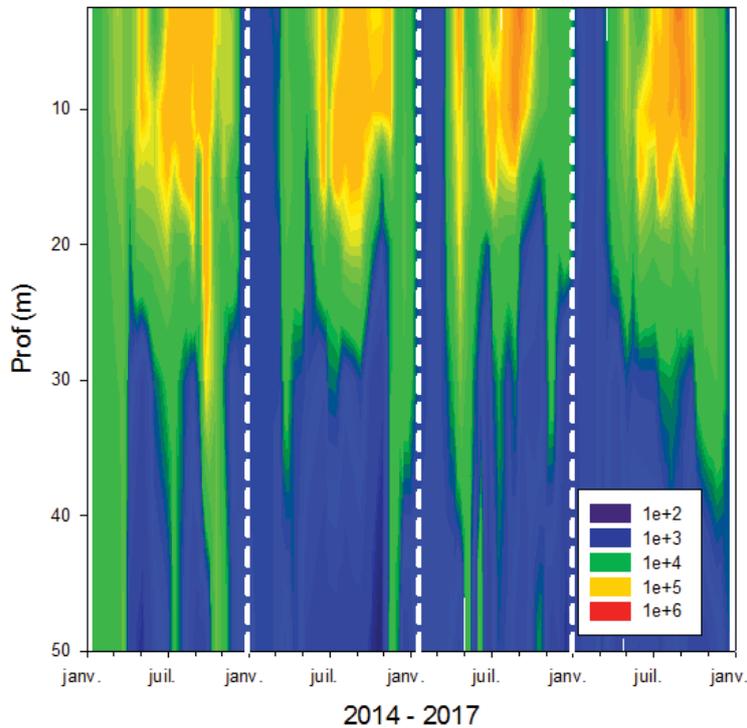


Figure 5 : Evolution des concentrations de picocyanobactéries entre 2.5 et 50 m entre 2014 et 2017.
Figure 5 : Picocyanobacterial concentrations between 2.5 and 50 m depth from 2014 to 2017.

Sur la période de 2014 à 2017, la proportion (en termes de biomasse) des picocyanobactéries fluctue entre 5,6 (en 2014) et 10,1% (en 2016) révélant de fortes disparités entre année (Fig. 6). L'année 2017 semble

caractérisée par une proportion significativement plus basse que 2016 mais comparable à 2014. Le suivi à long terme de cette communauté devrait permettre de confirmer (i) que la proportion picoplanctonique augmente avec la réoligotrophisation du lac, et donc (ii) que ce groupe indique une amélioration de la qualité des eaux du lac associé à un changement de son fonctionnement écologique.

La comparaison avec les deux autres lacs permet de constater, sur la période 2014-2017, une plus forte concordance entre les lacs Léman et du Bourget, comparativement à Annecy plus oligotrophe et restauré depuis plus longtemps (Fig. 7).

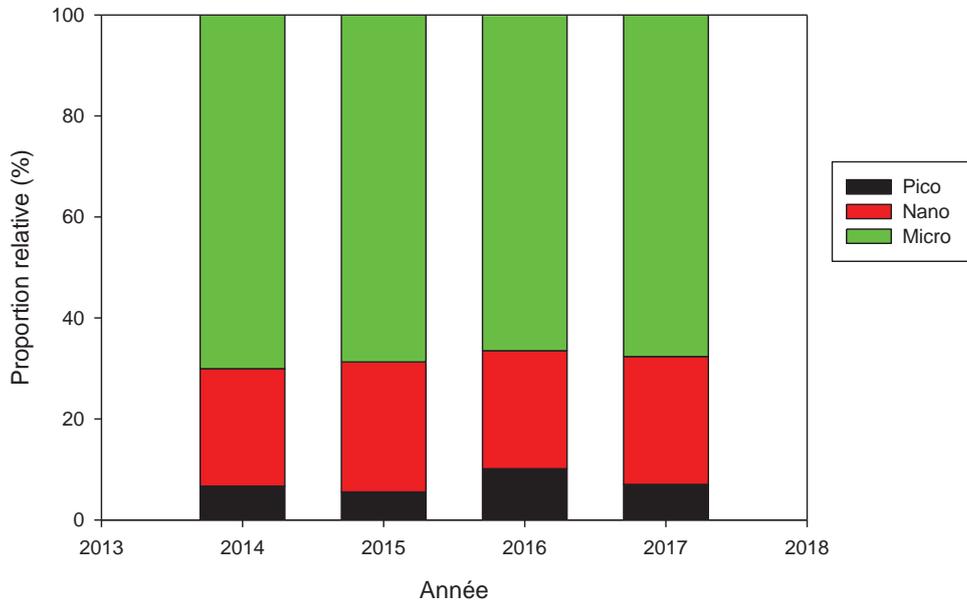


Figure 6 : Evolution de la proportion (en %) de biomasse des compartiments pico-, nano- et microphytoplanctoniques dans le Léman pour la période 2014-2017 entre 0 et 18 m.

Figure 6 : Evolution of the average proportion (in %) of the pico-, nano- and microphytoplankton biomass in Lake Geneva for the period 2014-2017.

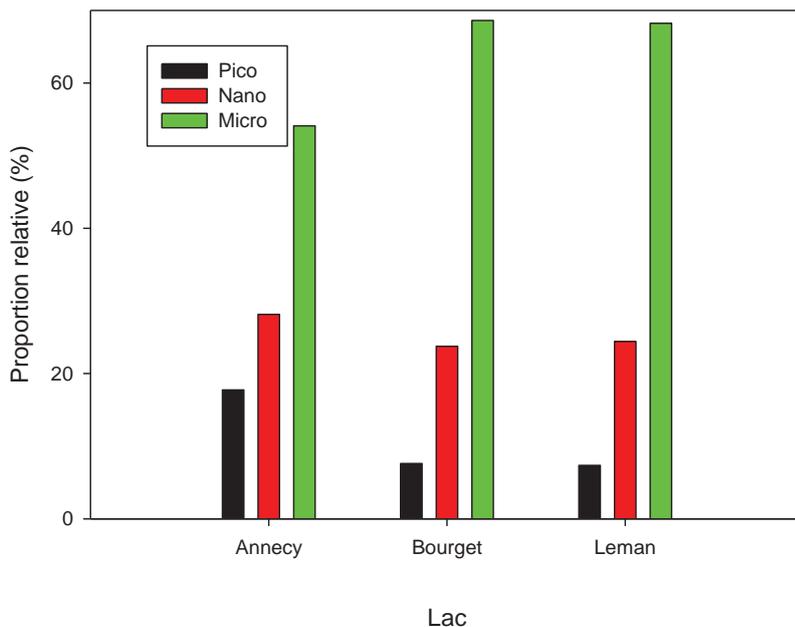


Figure 7 : Evolution de la proportion (en %) de biomasse des compartiments pico-, nano- et microphytoplanctoniques dans les lacs Léman, d'Annecy et du Bourget pour la période 2014-2017.

Figure 7 : Evolution of the average proportion (in %) of the pico-, nano- and microphytoplankton biomass in Lakes Annecy, Bourget and Geneva for the period 2014-2017.

5. 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 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
- 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. 2018. Le phytoplancton du Léman. Rapport scientifique CIPEL 2018, campagne 2017, 86-97
- 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