



## Etude des interactions microalgues-bactéries en milieu marin (MICROMAR)

## **Projet EC2CO (2015-2016)**

Le projet MICROMAR s'inscrit dans le vaste domaine de la compréhension du fonctionnement des écosystèmes marins et plus particulièrement celui des interactions biologiques. Nous nous intéresserons aux interactions entre bactéries et microalgues afin de mieux comprendre le fonctionnement des réseaux trophiques marins. L'association du phytoplancton avec les bactéries est ubiquitaire dans les écosystèmes aquatiques. L'environnement immédiat des cellules phytoplanctoniques (ou phycosphère) est considéré comme un environnement physiquement et chimiquement distinct de l'eau environnante et pourrait favoriser des associations spécifiques. Ces relations pourraient instaurer ainsi une dynamique d'interactions dont le fonctionnement pourrait expliquer la complexité des réseaux trophiques marins.

Les relations entre le phytoplancton et les bactéries et leurs dynamiques sont complexes. Il a, par exemple, été suggéré que l'interaction des diatomées avec les bactéries avaient un rôle important dans leur succès écologique en favorisant leurs blooms. Plus de 5% du génome des diatomées est constitué de gènes dérivés des bactéries, attestant de l'histoire évolutive de cette interaction entre ces deux partenaires. Dans la phycosphère, les bactéries peuvent avoir accès aux exsudats algaux comprenant des polysaccharides, de petits acides aminés, des sucres et des glycoprotéines. Ces composés carbonés peuvent être spécifiques des espèces algales et ainsi déterminer les types bactériens pouvant s'y associer. Par exemple, *Skeletonema costatum*, sécrète de grandes quantités de matière organique dissoute (MOD) riches en hydrates de carbone, alors qu'*Emiliania huxleyi* sécrète de petites quantités de MOD contenant de plus petites proportions d'hydrates de carbone. Inversement, les effets spécifiques des bactéries associées sur la physiologie des algues comprennent, par exemple, l'augmentation de l'agrégation des cellules dans le cas des *Thalassiosira* et la production de toxines chez *Pseudo-nitzschia*.

Le paradigme dominant de l'interaction bactéries-phytoplancton est toutefois que le phytoplancton sert de sources de nutriments organiques pour les bactéries saprophytes comme décrit dans le concept de la boucle microbienne. Cependant, d'autres types d'interactions comme des relations mutualistes peuvent s'instaurer entre bactéries et phytoplancton. D'autres études ont également montré que des bactéries marines peuvent tuer du phytoplancton vivant, parfois de manière spécifique. Le stade de croissance et l'état physiologique des algues peuvent aussi déterminer la succession des communautés bactériennes attachées. La même bactérie peut, par exemple, stimuler ou inhiber la croissance de l'algue en fonction de l'état physiologique de l'algue. Les bactéries qui sont

bénéfiques pour leur hôte algal (mutualistes) seraient plus abondantes pendant les fortes abondances algales (blooms). A l'inverse, les bactéries compétitrices ou parasites d'un hôte algal domineraient juste avant le déclin du bloom. Enfin, les bactéries saprophytes, spécialisées dans la reminéralisation de la matière organique de cellules algales mortes, seraient plus abondantes après les blooms.

S'il est bien connu que les bactéries colonisent efficacement les phytodétritus (particules composées de phytoplancton sénescent) et contribuent significativement à leur dégradation lors de leur chute de la surface vers les grandes profondeurs, les phytodétritus peuvent de leur côté altérer les bactéries qui leur sont attachées pendant leur séjour dans la couche euphotique. En effet, ces agrégats constituent des microenvironnements hydrophobes où la durée de vie de l'oxygène singulet résultant de l'induction de processus photooxydatifs dans les cellules phytoplanctoniques peut être suffisamment longue pour induire des photoprocessus de type II dans les bactéries hétérotrophes adsorbées. L'irradiation (lumière visible et UV) de diverses cultures de phytoplancton sénescent non axéniques et de cultures de bactéries isolées a mis en évidence une photodégradation de l'acide cisvaccénique des bactéries hétérotrophes 100 fois plus rapide en présence de phytoplancton sénescent que dans les bactéries isolées ayant subi la même irradiation. Il semblerait donc que l'oxygène singulet dont la production dans les phytodétritus excède la capacité de piégeage des systèmes photoprotecteurs, puisse migrer hors des chloroplastes et ainsi causer des dommages considérables sur les composants des bactéries absorbées (non seulement des lipides, mais probablement aussi des protéines et de l'ADN du fait de l'absence de système photoprotecteur réellement efficace dans ces organismes.

En résumé, les études précédentes ont montré l'existence de patterns récurrents dans les associations microalgues-bactéries. Ces observations mènent inévitablement à se questionner sur les possibles conséquences de ces associations pour les deux partenaires et sur les forces évolutives qui ont mené à leur succès et leur stabilité.

## Objectif général et questions de recherche traitées

Du fait de la complexité des communautés bactériennes, il n'a pas encore été possible de déterminer comment leur diversité et leur fonctionnement résultent de leurs interactions avec le phytoplancton et impactent leur hôte phytoplanctonique. La compréhension de ces interactions est toutefois fondamentale pour mieux comprendre le fonctionnement des réseaux trophiques marins.

De nombreuses interactions microalgues-bactéries impliquent des contacts directs, de cellule à cellule. La majorité des études existantes ont toutefois été réalisées au niveau des populations ou des communautés qui masquent très probablement les interactions cellule-cellule. En conséquence, très peu de choses sont connues sur la formation et les interactions des assemblages bactériens attachés aux cellules-hôtes. La seule exception est une étude décrivant la diversité des morphologies bactériennes attachées à des cellules individuelles de diatomées (Kaczmarska *et al.* 2005).

L'objectif général de ce projet sera d'étudier les interactions cellule-cellule existant entre des

microalgues marines et les bactéries. Nous focaliserons donc notre étude sur les bactéries attachées à leur hôte. Ces associations pourraient en effet avoir des propriétés collectives différentes de celles des deux partenaires individuels. Cette approche nous apparait être une étape essentielle pour étudier les interactions à une échelle physique appropriée. Les études que nous mènerons utiliseront des microalgues qui, à la fois, existent en culture et sont également présentes de manière régulière dans



**Fig. 1.** Image satellite (Landsat) montrant un bloom d'*E. huxleyi*. au large des côtes anglaises (24/07/1999). Dans l'encadré. une cellule d'*E. huxlevi* au MEB.

l'environnement marin côtier. Ces organismes sont des diatomées (*Chaetoceros* et *Thalassiosira*) et l'haptophyte *Emiliania huxleyi* qui peut former des blooms spectaculaires visibles par satellite (Fig. 1).

Le premier axe de nos travaux aura pour but d'étudier l'influence de l'hôte sur la diversité des bactéries qui lui sont associées et celle des bactéries sur la physiologie de leur hôte. Les questions auxquelles nous souhaitons répondre viseront à connaître quel est le degré de spécificité et la nature des interactions existant entre les diatomées sélectionnées et leur microflore attachée. Nous comparerons les microflores attachées aux diatomées et identifierons les types d'interactions (saprophytisme, mutualisme, parasitisme) exercés par les différents taxons bactériens épibiontes que nous aurons isolés. Des expérimentations viseront, par exemple, à montrer si les bactéries isolées de ces associations sont mutualistes avec leur hôte d'origine mais peuvent être commensales ou parasites vis-à-vis d'un hôte étranger. Ces questions seront abordées en utilisant des approches complémentaires (isolement « single-cell » de cellules microalgales, identification des bactéries associées aux cellules microalgales isolées par culture et par approche moléculaire, co-cultures à partir de cultures algales axénisées).

Le deuxième axe du projet est un prolongement du projet TRANSPHYTOBAC (EC2CO-Microbien, 2013-2014). Ce projet a initié une collaboration entre le MIO et la Station Biologique de Roscoff qui n'était pas partenaire du projet. Ces travaux conjoints ont mené à l'obtention de résultats originaux qui sont à la base de travaux que nous souhaitons développer dans cet axe. Ces résultats préliminaires ont montré qu'en fin de phase stationnaire, une forte proportion (environ 90%) des bactéries associées aux cellules d'*E. huxleyi* n'étaient plus actives et que celles ayant résisté au stress oxydatif étaient pour la plupart pigmentées. Les questions auxquelles nous souhaitons répondre maintenant auront pour but de savoir si la résistance au stress lié à l'induction de processus photooxydatifs pendant la phase stationnaire algale est liée au contenu des bactéries en caroténoïdes et si elle est un facteur déterminant dans la formation et la stabilité des associations microalgues-bactéries.

Les bactéries et les microalgues qui coexistent de manière intime dans les océans ont coévolué pour engager des interactions variées qui modifient de manière significative leur comportement individuel. Les forces évolutives qui déterminent ces relations intimes restent encore inconnues. Le

troisième axe du projet visera à identifier une partie des bases physiologiques qui expliquent le succès et la stabilité de ces interactions. A partir de cultures individuelles de bactéries et de co-cultures avec une microalgue, nous chercherons à connaître ces bases mais également à identifier les gènes impliqués dans la résistance bactérienne au stress oxydatif induit lors des interactions cellule-cellule.

## **Partenaires**

UMR 7144-Adaptation et Diversité en Milieu Marin (Station Biologique, Roscoff)
UMR 7294-Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO, Marseille)(https://www.mio.univ-amu.fr/)

FR 2424-Plateforme ABiMS\_ (Station Biologique, Roscoff)( http://abims.sb-roscoff.fr/)