

Protist paleoecology from biological sediment archives of the marine coastal ecosystems

Abstract

Protists are important contributors to the biogeochemical cycles of the marine environment. The composition of their communities and their temporal dynamics are traditionally studied by analyzing data sets acquired in the frame of monitoring/observation networks of plankton, whose implementation is however relatively recent (≤ 40 years). In this study, we analyzed the biological traces (resting stages and ancient DNA) preserved in sediments covering a time scale of 150 years in order to study changes in the composition and the temporal dynamics of marine protists, focusing mainly on two estuarine ecosystems of the Bay of Brest (Brittany, France). These changes were studied at three levels of biological complexity: communities, species and populations. The diversity of protists and their preservation potential in sediments over the time were evaluated using a metabarcoding approach (barcode: V4 region of the 18S rDNA) on the DNA extracted from ancient sediments. The results showed that only a minor part (16-18%) of the protists richness (#OTUs) of superficial sediments is retrieved in deep sediments, and that most of the protists found in ancient sediments are known to produce resting stages. Two main paleocommunities were differentiated (before/after 1950), suggesting the existence of a distinct and specific biodiversity for the identified periods. The relative abundances of dinoflagellates showed a decreasing trend since the 70s' and *Alexandrium* and *Gonyaulax* genera showed an opposite dynamic in terms of relative abundance over the time. These changes in the community composition are probably the result of the hydrological changes occurred in the Bay of Brest during the last century. The importance of the genus *Alexandrium* unveiled by the metabarcoding analysis, encouraged the study of the multidecadal dynamics of the species *Alexandrium minutum*. This species is classified as invasive in Europe and gained attention in the Bay of Brest after the toxic bloom events occurred since 2012. Paleogenetic data (real-time PCR) suggest that *A. minutum* is present in the Bay of Brest since at least 1873 ± 7 and that, across a time scale of about 150 years, the species has proliferated only recently in the estuaries of the bay. This recent proliferation of *A. minutum* in the estuaries questioned about the current distribution of the species in the whole Bay of Brest. The analysis of *A. minutum* DNA traces and the cysts germination experiments performed from superficial sediments samples in thirty stations sampled during two consecutive winters (December 2013 and January 2015) revealed that the species currently occupies the whole area of the Bay of Brest and is potentially able to germinate in all the studied sites. Real-time PCR data suggest that the south-eastern part of the bay, where muddy sediment are more abundant, is potentially more favorable for the accumulation of the species cysts. This heterogeneity of the spatial distribution of the species in the sediments was also found in water. The Lagrangian model simulations of particle trajectories showed a disconnection between the estuaries of the Bay of Brest and suggest the presence of potential barriers for *A. minutum* dispersal in the water. In order to explain the reasons of the recent proliferation of *A. minutum* in the Brittany estuaries, we compared the physiological performances of *A. minutum* and *Scrippsiella donghaiensis* (non-toxic dinoflagellate) strains. These strains were obtained from the germination of their cysts accumulated in sediments at different periods of time. Mimicking the historical changes of Nitrogen/Phosphorus ratio (N/P) occurred in the Brittany estuaries during the last century, the growth rate, phosphorus assimilation rate, and the maximal biomass attained by the different strains were compared in culture media with different N/P ratios (25 and 100). The results showed a strong phenotypic intraspecific variability for both species and for both analyzed media. The results of this thesis work, discussed in the context of the changes of protist communities over the time, contribute to the research in sedimentary paleoecology, showing the advantages and limits of this approach to reveal still underexplored biological patterns.

Keywords: Paleoecology; Coastal ecosystems; Protists; Dinoflagellates; Harmful Algal Blooms (HABs); Resting stages; Ancient DNA; Plankton; Molecular ecology; Metabarcoding; Real-time PCR.

Paléoécologie des protistes à partir d'archives biologiques provenant d'écosystèmes marins côtiers

Résumé

Les protistes sont d'importants contributeurs aux cycles biogéochimiques de l'environnement marin. La composition de leurs communautés et leur dynamique temporelle sont traditionnellement étudiées en analysant des séries de données acquises dans le cadre de réseaux de surveillance/observation du plancton dont la mise en place est relativement récente (≤ 40 ans). Dans cette étude, nous avons analysé les traces biologiques (formes de résistance et ADN ancien) préservés dans des sédiments couvrant une échelle temporelle d'environ 150 ans afin d'étudier les changements de la composition et la dynamique temporelle des protistes marins, principalement dans deux écosystèmes estuariens de la rade de Brest (Bretagne, France). Ces changements ont été étudiés à trois niveaux de complexité biologique: communautés, espèces et populations. La diversité des protistes et leur potentiel de préservation dans les sédiments au fil du temps ont été évalués à travers l'utilisation d'une approche de *metabarcoding* (barcode: région V4 du 18S ADNr) sur l'ADN extrait à partir de sédiments anciens. Les résultats montrent que seulement une partie minoritaire (16-18%) de la richesse des protistes (#OTUs) des sédiments superficiels est retrouvée dans les sédiments profonds et que la plupart des protistes présents dans les sédiments anciens sont connus pour être capables de produire des formes de résistance. La composition des communautés de protistes étaient différenciées en deux principales paléocommunautés (avant/après 1950), suggérant une biodiversité spécifique à chaque période. Les abondances relatives des dinoflagellés ont montré une tendance à la baisse depuis les années 70' et les genres *Alexandrium* et *Gonyaulax* ont montré une dynamique opposée en termes d'abondance relative à travers le temps. Ces changements de communautés sont probablement la conséquence des variations hydrologiques documentées en rade de Brest au cours du dernier siècle. La prise de conscience de l'importance du genre *Alexandrium*, dévoilée par l'étude de *metabarcoding*, a conduit à l'étude de la dynamique multidécennale de l'espèce *Alexandrium minutum*. Cette dernière est classifiée comme invasive en Europe et a attiré l'attention en rade de Brest suite aux évènements d'efflorescences toxiques apparus depuis 2012. Les données paléogénétiques (PCR en temps réel) suggèrent qu'*A. minutum* est présente dans la rade depuis au moins 1873 ± 7 et qu'au cours des derniers 150 ans, l'espèce est devenue envahissante, proliférant dans les estuaires de la rade seulement ces dernières années. La mise en évidence de la prolifération récente d'*A. minutum* dans les estuaires de la rade de Brest nous a amené à nous interroger sur la distribution actuelle de l'espèce dans l'ensemble de cet écosystème. L'analyse des traces d'ADN d'*A. minutum* et des expériences de germination des kystes effectuées sur des sédiments superficiels de trente sites échantillonnés pendant deux hivers consécutifs (décembre 2013 et janvier 2015) a révélé que l'espèce occupe et qu'elle est potentiellement capable de germer dans tous les sites étudiés. Les données de PCR en temps réel suggèrent que la partie sud-est de la rade, où des sédiments à typologie vaseuse sont plus abondants, est potentiellement plus favorable à l'accumulation des kystes de l'espèce. Cette hétérogénéité de la distribution spatiale dans le sédiment a également été retrouvée dans l'eau. La simulation par modèle lagrangien des trajectoires de particules physiques montre une déconnexion entre les estuaires de la rade et suggère la présence de barrière de dispersions des cellules d'*A. minutum* dans l'eau. Pour essayer d'expliquer les raisons des proliférations récentes d'*A. minutum* dans les écosystèmes bretons, nous avons comparé les performances physiologiques de souches d'*A. minutum* et *Scrippsiella donghaiensis* (dinoflagellé non toxique). Ces souches ont été obtenues à partir de la germination des kystes accumulés dans les sédiments d'époques différentes. En mimant les changements historiques des rapports Azote/Phosphore (N/P) qui ont eu lieu dans les écosystèmes bretons au cours du dernier siècle, les taux de croissance et de consommation de phosphore, et la biomasse maximale atteinte par les différentes souches ont été mesurés dans des milieux de cultures ayant un rapport N/P différent (25 et 100). Les résultats montrent une forte variabilité phénotypique intraspécifique au sein des deux espèces et dans les deux milieux étudiés. Les résultats de ces travaux de thèse, discutés dans un contexte de changements des communautés de protistes à travers le temps, contribuent au domaine de la recherche en paléoécologie sédimentaire, montrant les avantages et les limites de cette approche pour révéler des patrons biologiques encore peu explorés.

Mots-clés : Paléoécologie ; Ecosystèmes côtiers ; Protistes ; Dinoflagellés ; Efflorescences d'algues toxiques (HABs) ; formes de résistance ; ADN ancien ; Plancton ; Ecologie moléculaire ; Metabarcoding ; PCR en temps réel.