

# Metabolic and ecological strategies of specialist bacteria mediating macroalgae breakdown

## Abstract

Macroalgae constitute a large reservoir of organic matter worldwide. It is long known that heterotrophic bacteria are key players in algal biomass recycling. To date, numerous works focused on the degradation and assimilation of purified algal polysaccharides, leading to discovery of new enzymes and complete catabolic pathways. However, this strategy does not reflect the structural complexity of the algal extracellular matrix. In this thesis I implemented diverse approaches to decipher the ecological and metabolic strategies of bacteria specialized in the utilization of fresh macroalgae. I evidenced a succession of the epiphytic microbiota during *in situ* macroalgae decomposition, shedding light on the utilization of distinct substrate niches by successive bacterial communities. Protocols of qPCR and CARD-FISH were optimized for the specific detection of the known algal-polysaccharides degrader genus *Zobellia*. Their application revealed a widespread season-dependent distribution of the genus at the surface of macroalgae. Its particularly high abundance and activity on decaying algae emphasized its key role in the algal degradation processes. I demonstrated that *Zobellia galactanivorans* Dsij<sup>T</sup> has the capacity to use fresh brown algae as a sole carbon source, highlighting a specific pioneer degrader behaviour. The analysis of its transcriptome revealed the induction of a subset of genes, including novel uncharacterized polysaccharide utilization loci (PULs), specifically induced with intact algae compared to purified polysaccharides. The preliminary characterization of one of these PULs demonstrated its role in the degradation of fucose-containing sulfated polysaccharides from *Laminaria digitata* and led to the discovery of novel enzymatic activities in *Z. galactanivorans*. Through co-culture experiments I showed that *Z. galactanivorans* supported the growth of *Tenacibaculum* strains with macroalgae, bringing out cooperative interactions between pioneer and opportunist bacteria. By studying macroalgae degradation mechanisms at different scales, this thesis contributes to unveil the strategies of heterotrophic marine bacteria in the fate of macroalgal biomass.

## Résumé

Les macroalgues représentent un immense stock de matière organique à travers le monde. Les bactéries hétérotrophes sont largement reconnues comme des acteurs clés du recyclage de cette biomasse algale. De nombreuses études se sont attachées à caractériser de nouvelles enzymes et voies cataboliques complètes pour la dégradation des polysaccharides algaux purifiés. Cependant, ces mécanismes ne reflètent vraisemblablement pas la complexité des réponses mises en œuvre pour la dégradation d'algues entières. Au cours de ma thèse, j'ai ainsi étudié les stratégies écologiques et métaboliques de bactéries spécialisées dans l'utilisation des macroalgues fraîches. J'ai d'abord mis en évidence une succession du microbiote épiphyte au cours de la décomposition de macroalgues *in situ*, mettant en lumière l'utilisation de différents types de substrats par des communautés successives. Des protocoles de qPCR et CARD-FISH ont été optimisés pour la détection spécifique du genre *Zobellia*. Ce dernier a été détecté sur des macroalgues brunes, rouges et vertes et son abondance fluctue au cours de l'année. Son abondance et son activité particulièrement élevées dans le microbiote d'algues en décomposition soulignent son rôle clé dans les processus de dégradation des algues. J'ai démontré en particulier que la souche *Zobellia galactanivorans* Dsij<sup>T</sup> avait la capacité d'utiliser les algues brunes comme seule source de carbone, mettant ainsi en évidence son comportement pionnier dans l'attaque des tissus algaux. L'analyse de son transcriptome a révélé un ensemble de gènes, dont certains au sein de nouveaux loci dédiés à l'utilisation de polysaccharide (PUL) non caractérisés, spécifiquement induits en présence d'algues fraîches par rapport aux polysaccharides purifiés. La caractérisation préliminaire de l'un de ces PUL a établi son rôle dans la dégradation de polysaccharides sulfatés contenant des résidus fucoses provenant de *Laminaria digitata*, et a conduit à la découverte de nouvelles activités enzymatiques chez *Z. galactanivorans*. Au cours d'expériences de co-cultures j'ai montré que des souches du genre *Tenacibaculum* n'étaient capables de croître à partir de macroalgues qu'en présence de *Z. galactanivorans*, révélant de probables interactions coopératives. En étudiant les mécanismes de dégradation des macroalgues à différentes échelles, cette thèse contribue à dévoiler les stratégies des bactéries marines hétérotrophes dans le devenir de la biomasse algale.