

THÈSE

UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR

École doctorale 211 : Sciences Exactes et leurs Applications

Présentée et soutenue le 4 Décembre 2015

par **Vanessa Rouaud**

pour obtenir le grade de docteur

de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Spécialité : Physiologie et Biologie des Organismes – Populations - Interactions

CARACTÉRISATION SPATIALE ET TEMPORELLE DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES D'UN TYPE DE MUCILAGE MARIN, LE LIGA, SE FORMANT DANS LE SUD DU GOLFE DE GASCOGNE

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

- Urania CHRISTAKI
- Jean-François HUMBERT

Professeur / Université du Littoral Côte d'Opale
Directeur de recherche / Université Pierre et Marie Curie

EXAMINATEURS

- Cédric HUBAS
- Philippe GAUDIN

Maître de conférences / Muséum National d'Histoire Naturelle
Directeur de recherche / Institut National de la Recherche Agronomique -
Université de Pau et des Pays de l'Adour

DIRECTEURS

- Béatrice LAUGA
- Robert DURAN

Professeur / Université de Pau et des Pays de l'Adour
Professeur / Université de Pau et des Pays de l'Adour



Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'Equipe Environnement et Microbiologie (EEM), qui fait partie du laboratoire IPREM (Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux), de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.

Je tiens d'abord à remercier mes rapporteurs, Urania Christaki, Professeur de l'Université du Littoral Côte d'Opale affiliée au Laboratoire d'Océanologie et des Géosciences de Wimereux, et Jean-François Humbert, Directeur de recherche à l'Université Pierre et Marie Curie, affilié au Laboratoire de Biogéochimie et écologie des milieux continentaux (Biomeco), pour avoir accepté de juger ce travail de thèse. Je tiens également remercier Cédric Hubas, maître de conférences du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris et Philippe Gaudin, Directeur de recherche au laboratoire d'Écologie Comportementale et Biologie des Populations de Poissons (ECOBIO) de l'INRA de Saint-Pée-sur Nivelle, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse en tant qu'examineurs.

Je remercie le Professeur Robert Duran pour m'avoir accueillie dans ce laboratoire et pour m'avoir permis de faire une thèse. De même je remercie les financeurs du projet PERMALA-LIGA sans qui cette thèse n'aurait pas été possible : la Conseil Régional Aquitaine, l'Agence de l'eau Adour-Garonne et France Filière Pêche.

Mes remerciements vont ensuite à mes directeurs de thèse, Béatrice Lauga et Robert Duran, et à mon co-encadrant Rémy Guyoneaud. Merci pour tous vos nombreux conseils, merci de m'avoir fait confiance et laissée effectuer les prélèvements, merci de m'avoir permis de participer à des congrès et à une école d'été, et surtout merci d'avoir été présents pour moi, en particulier pendant les périodes de rush (trop nombreuses) durant lesquelles vous avez fait preuve de réactivité et de disponibilité.

Je remercie également toutes les personnes partenaires du projet avec lesquelles j'ai pu travailler, affiliées à l'Institut des Milieux Aquatiques (IMA), au Laboratoire d'Analyses de Prélèvements HYdrobiologiques (LAPHY), au laboratoires d'ECologie et BIOgéochimie des écosystèmes Côtiers (EPOC-

ECOBIOC), au Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (EPOC-LPTC), au laboratoire ECOBIOP, au Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement (LCABIE), au Laboratoire des Ressources Halieutiques Aquitaine (LRHA-Ifremer), au laboratoire de Sciences des Eaux et du Territoire (SET) et l'équipe Interactions Vagues Sédiment structure (IVS). Merci pour toutes ces discussions enrichissantes et pour avoir partagé avec moi votre vision sur le phénomène Liga.

Plus particulièrement, j'aimerais remercier Philippe Gaudin et Nicolas Savoye pour avoir accepté de juger mon travail de thèse en cours de parcours et pour les conseils qu'ils m'ont apporté pour avancer au mieux dans la poursuite de ma thèse.

Je remercie les membres de l'équipe SOMLIT d'Arcachon d'avoir accepté de me former aux techniques de prélèvement en mer ainsi qu'aux filtrations.

J'aimerais aussi exprimer mes profonds remerciements à tous les membres, ponctuels ou réguliers, de « l'équipe de prélèvement » avec qui j'ai passé de longues heures en mer, souvent à nourrir les poissons. Plus particulièrement j'aimerais remercier notre Capitaine, Nathalie Anglade, pour sa bonne humeur permanente malgré une houle qui nous en a fait voir de toutes les couleurs, et Laurent Dubois, notre MacGyver sans qui on se serait parfois retrouvés dans des situations bien compliquées. Et enfin je remercie Nicolas Suspérregui pour toutes ces journées de prélèvement (interminables !) passées ensemble dans la bonne humeur, en mer et dans les laboratoires pour la filtration, mais aussi pour tous ces moments que nous avons partagé au cours de nos thèses, pour tout ces travaux que nous avons accompli ensemble et pour la détermination dont tu as fait preuve pour les mener à leur aboutissement.

Je remercie bien sûr tous les membres du laboratoire pour ces trois années passées ensemble et pour les échanges, scientifiques ou non, que j'ai pu avoir avec vous. Plus particulièrement, merci à Solange de m'avoir formée à mon arrivée, merci à Thomas d'avoir été mon stagiaire, et merci à Carole d'avoir réussi à gérer toutes mes ordres de mission pour les prélèvements et la paperasse qui va avec.

Parce qu'une thèse ce n'est pas que du boulot et que j'ai passé de merveilleux moments avec vous, j'aimerais remercier toutes les personnes avec qui j'ai passé du bon temps en extérieur, doctorants, post-doctorants, ATER, maitres de conférences, avec une mention spéciale pour les membres de mon bureau, avec qui j'ai passé la majeure partie de mes journées ces dernières années. Vous me

manquerez. Merci également à ceux qui m'ont hébergé pendant la fin de ma rédaction de manuscrit parce que j'ai rendu mon appartement trop tôt.

Et parce que les relations sociales sont en voie de disparition pendant les thèses, merci à tous mes amis, et plus particulièrement à Yoann, Shamin et Carole, d'avoir accepté mon absence. Merci à Micka de m'avoir aidée à garder le pied à l'étrier par sa présence en tout temps (et à toute heure !). Merci également à ma famille d'avoir supporté mon indisponibilité pendant ces trois années de thèse et plus particulièrement, merci Mamie pour ta vision extra-lucide des choses et pour toutes ces heures où tu as cherché à me changer les idées !

Enfin, merci à Maxime, l'homme de ma vie qui a accepté de m'épouser pendant cette thèse, d'avoir accepté que je fasse ma thèse à Pau en dépit de ton travail qui est à Nantes. Merci d'avoir fait la route toutes les semaines pour venir me retrouver, merci d'avoir supporté mes horaires impossibles sans broncher, merci de m'avoir remotivée dans les moments de faiblesse, merci de m'avoir coachée dans les moments de stress, et tout simplement, merci d'avoir vécu ma thèse à mes côtés.

Merci à tous

SOMMAIRE

Liste des abréviations en français	11
Liste des abréviations en anglais	12
Lexique	13
Liste des figures et tableaux.....	14
Introduction générale	25
Chapitre I : Synthèse bibliographique	29
1. <i>Les écosystèmes microbiens côtiers</i>	<i>31</i>
1.1. Quelques définitions liées aux écosystèmes	31
1.1.1. L'organisation des écosystèmes	31
1.1.2. La diversité biologique des écosystèmes.....	32
1.2. Diversité et rôle écologique des écosystèmes microbiens côtiers	34
1.2.1. Le phytoplancton	35
1.2.1.1. Diversité du phytoplancton.....	35
1.2.1.2. Rôle écologique du phytoplancton	35
1.2.1.2.a) Rôle écologique général	35
1.2.1.2.b) La pompe biologique	36
1.2.1.2.c) Cas particulier des blooms.....	38
1.2.2. Le bactérioplancton	39
1.2.2.1. Diversité du bactérioplancton	39
1.2.2.2. Rôle écologique du bactérioplancton : la boucle microbienne.....	41
1.3. Impact de l'anthropisation et des changements climatiques sur les écosystèmes microbiens côtiers	42
1.3.1. Impact des activités humaines	42
1.3.2. Changements climatiques.....	42
2. <i>Un écosystème un peu particulier : les agrégats marins</i>	<i>43</i>
2.1. Un agrégat marin très courant : la neige marine	43
2.2. Un agrégat marin plus atypique : Les mucilages marins pélagiques	44
2.2.1. Introduction	44
2.2.2. Mucilages marins dans les écosystèmes côtiers	46
Introduction	48
I. Occurrence of MPM.....	49
II. Biological origin of marine pelagic mucilages	51
II.1. From s-EPS to TEP, marine snow and marine pelagic mucilages.....	51

II.2. Taxonomic groups involved in MPM production.....	53
II.2.1. Diatoms	54
II.2.1.1. Ecological role of EPS exudation by diatoms	54
II.2.1.2. Diversity associated to MPM	54
II.2.1.3. TEP producers and growth conditions for EPS exudation	55
II.2.2. Dinoflagellates.....	56
II.2.2.1. Ecological role of EPS exudation.....	56
II.2.2.2. Diversity associated to MPM	57
II.2.2.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation.....	58
II.2.3. Prymnesiophytes	59
II.2.3.1. Ecological role of EPS exudation.....	59
II.2.3.2. Diversity associated to MPM	59
II.2.3.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation.....	59
II.2.4. Cyanobacteria.....	60
II.2.4.1. Ecological role of EPS exudation.....	60
II.2.4.2. Diversity associated to MPM	61
II.2.4.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation.....	61
II.2.5. Heterotrophic bacteria	62
II.2.5.1. Ecological role of EPS exudation (and role of bacteria in MPM).....	63
II.2.5.2. Diversity associated to MPM	64
II.2.5.3. Growth conditions for EPS exudation.....	64
II.2.6. Zooplankton.....	65
II.2.6.1. Ecological role of EPS production	65
II.2.6.2. Diversity associated to MPM	65
II.2.6.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation.....	66
II.3. Global influence of MPM on marine communities structure.....	67
II.4 MPM and the carbon cycle	68
II.4.1. Biological pump	69
II.4.2. Carbon utilization in the pelagic zone.....	70
III. Abiotic factors driving MPM cycle	71
III.1. MPM initiation and persistance	71
III.2. Global change as aggravating factor for MPM formation.....	73
IV. MPM degradation and dynamic	74
IV.1. Microbial community as MPM degrader.....	74
IV.2. Bacterial EPS consumption	75
IV.3. Zooplankton grazing on MPM and phytoplankton.....	75
IV.4. Viral infection.....	76
IV.5. Programmed cell death in phytoplankton communities	77
V. Adverse effect of MPM	78
V.1. Impacts on human activities.....	78

V.2. Impacts on human health	80
V.3. Impacts on marine ecosystems.....	80
Conclusions and future perspectives	81
Acknowledgements	83
References.....	84
Annexes	102
2.2.3. Conclusions	104
3. <i>Le mucilage marin du Golfe de Gascogne : le Liga</i>	105
3.1. Le Golfe de Gascogne.....	105
3.2. Le Liga.....	107
Chapitre II : Matériel et méthodes	111
1. <i>Prélèvements et prétraitement des échantillons</i>	113
1.1 Sites de prélèvements.....	113
1.2. Méthodes de prélèvement	114
1.2.1. Prélèvement de l'eau de mer et de l'eau de l'Adour	116
1.2.2. Prélèvement de Liga.....	117
1.3. Traitements des prélèvements d'eau de l'Adour, d'eau de mer et de Liga	118
1.3.1. Collecte des microorganismes de l'eau de mer et de l'eau de l'Adour	118
1.3.2. Collecte des différentes fractions du Liga.....	119
1.4. Collecte des données environnementales	120
2. <i>Analyse des communautés microbiennes par des méthodes de biologie moléculaire</i>	121
2.1. Analyse de la diversité par une technique d'empreintes moléculaires : la T-RFLP	121
2.1.1. Extraction d'ADN	122
2.1.2. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S ou 18S par PCR en temps final ...	122
2.1.3. Contrôle de la qualité des amplification sur gel d'agarose.....	124
2.1.4. Découpe de la bande d'intérêt sur gel d'agarose.....	124
2.1.5. Purification des produits PCR	125
2.1.6. Digestion des amplicons.....	126
2.1.7. Séparation des fragments par électrophorèse capillaire	127
2.2. Analyse de la diversité par séquençage à haut débit MiSeq (Illumina).....	127
2.2.1. Principe de la technique.....	127
2.2.2. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien ou 18S eucaryote par PCR	128
2.3. Analyse de la diversité fonctionnelle par puce à ADN GeoChip	129
2.3.1. Principe de la technique.....	129
2.3.2. Marquage des ADN et hybridation sur la GeoChip 5.0	131
3. <i>Analyses bioinformatiques</i>	132

3.1. Nettoyage des données brutes de T-RFLP.....	132
3.2. Nettoyage des données brutes issues du séquençage MiSeq.....	133
3.3. Nettoyage des données brutes de GeoChip.....	134
4. Analyses statistiques.....	134
4.1. Analyse de la diversité biologique et fonctionnelle.....	134
4.1.1. Analyse de la diversité alpha.....	134
4.1.2. Analyses de la diversité beta.....	135
4.2. Tests statistiques réalisés avec des données environnementales.....	136
Chapitre III : Étude des communautés microbiennes impliquées dans la formation de	
Liga à Biarritz.....	139
1. <i>Introduction du chapitre</i>	141
2. <i>Dynamics of microbial communities across the three domains of life in the South of</i>	
<i>the Bay of Biscay (over an annual cycle) with special emphasis on marine mucilage</i>	143
I. Introduction.....	143
II. Material and Methods.....	146
II.1. Study sites and sample collection.....	146
II.2. Environmental data collection.....	147
II.3. Pretreatment of T-RFLP data.....	148
II.4. Statistical analyses.....	148
III. Results and discussion.....	149
III.1. Physico-chemical characterization of samples at the DCaM revealed two	
environmental contexts over the year.....	149
III.2. Patterns of microbial diversity in freshwater, marine seawater, and marine mucilage	
communities all over the year coincides with environmental contexts.....	152
III.2.1. Characteristics of microbial communities diversity at the alpha level.....	152
III.2.2. Diversity dynamics within environmental compartments over the year.....	155
III.2.3. Diversity among environmental compartments.....	156
III.3. Focus on the microbial composition of marine mucilage and seawater at DCaM for	
bacterial and eukaryotic communities.....	159
IV. Conclusion.....	161
V. References.....	163
VI. Supplemental material.....	166
3. <i>Conclusion du chapitre</i>	169
Chapitre IV : Étude de la variation des communautés microbiennes marines et des	
trois fractions du Liga à Biarritz et Tarnos.....	171
1. <i>Introduction</i>	173
2. <i>Résultats</i>	175

2.1. Similarités entre les communautés microbiennes.....	176
2.1.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos.....	176
2.1.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga.....	176
2.2. Analyse de la diversité alpha.....	177
2.2.1 Communautés microbiennes marines de Tarnos.....	177
2.2.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga.....	180
2.3. Variation des communautés du Liga à Biarritz et à Tarnos.....	181
2.3.1. Variation générale.....	181
2.3.1.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos.....	181
2.3.1.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga.....	182
2.3.2. Variation saisonnière.....	183
2.3.2.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos.....	183
2.3.2.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga.....	186
2.4. Structure des communautés microbiennes.....	187
2.4.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos.....	187
2.3.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga.....	190
2.5. Influence des paramètres environnementaux sur la structure des communautés microbiennes de Biarritz et de Tarnos à la PMCa.....	194
3. Discussion.....	196
3.1. Variation des communautés marines de Tarnos.....	196
3.2. Comparaison entre la variation des communautés microbiennes de Biarritz et celles de Tarnos.....	197
3.3 Paramètres climatiques influençant la structure des communautés microbiennes marines à la profondeur d'apparition du Liga.....	199
3.4 Diversité et dynamique des communautés microbiennes du Liga.....	201
Chapitre V : Diversité spécifique du Liga, de l'eau de mer, et de l'Adour.....	207
1. Introduction.....	209
2. Résultats.....	210
2.1. Résultats préliminaires.....	211
2.2. Comparaison de la diversité entre les différents compartiments.....	212
2.2.1. Répartition des espèces eucaryotes du Liga, de l'eau de mer, et de l'Adour.....	212
2.2.2. Répartition des espèces bactériennes du Liga, de l'eau de mer, et de l'Adour.....	215
2.2.3. Diversité du Liga, de l'Adour et de l'eau de mer.....	219
2.2.4. Évolution des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments.....	221
2.2.4.1. Évolution globale des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments.....	221

2.2.4.2. Évolution saisonnière des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments	222
2.3. Facteurs environnementaux conditionnant les communautés de la fraction agrégée du Liga	224
3. <i>Discussion</i>	226
3.1. Diversité des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour, de l'eau de mer, et du Liga	226
3.2. Évolution saisonnière des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour, des compartiments marins, et des fractions du Liga et paramètres environnementaux gouvernant leur composition	229
Chapitre VI : Diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa avant et pendant l'apparition du Liga, et de la fraction agrégée du Liga fraîchement formée.....	233
1. <i>Introduction</i>	235
2. <i>Résultats</i>	236
2.1. Répartition et diversité des différentes catégories de gènes fonctionnels dans l'eau de mer à la PMCa et dans le Liga aux saisons É-A et H-P.....	236
2.2. Variation des gènes fonctionnels entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga.....	238
2.3. Répartition des gènes viraux et des catégories de gènes différentes entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga pendant les saisons É-A et H-P.....	243
3. <i>Discussion</i>	246
Conclusions et perspectives	253
Références	261
Annexes.....	271

Liste des abréviations en français

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AOP : Azote Organique Particulaire

BET : Bromure d'ETHidium

COD : Carbone Organique Dissous

COP (POC) : Carbone organique particulaire

É-A : Été et Automne

H-P : Hiver et Printemps

MES : Matière En Suspension

MOD : Matière Organique Dissoute

MOP : Matière Organique Particulaire

MPM : Mucilage Marin Pélagique

PMCa : Profondeur correspondant à la concentration maximale de chlorophylle *a* mesurée dans l'eau de mer.

pb : paires de bases

PSM : hotte à flux laminaire

UV : Ultra-Violet

Liste des abréviations en anglais

ANOVA: ANnalyse Of VAriance

bp: base pairs

CCA: Canonical Correspondence Analysis

DNA: Deoxyribonucleic acid

DCaM: Depth of Maximal Chlorophyll *a* concentration

DOC: Dissolved Organic Carbon

DOM: Dissolved Organic Matter

EPS: Extracellular Polymeric Particles

FAM: Fluorescein AMidite

HEX: Hexa-chloro-fluorescein-phosphoramidite

HSD (Tukey test): Honest Significant Difference

MANOVA: **Multivariate** ANalysis Of Variance

MPM: Marine Pelagic Mucilage

OTU: Operational Taxonomic Unit

PCA: Principal component Analysis

PCoA: Principal Coordinate Analysis

PCR: Polymerase Chain Reaction

PERMANOVA: PERmutational Multivariate ANalysis Of Variance

POC: Particulate Organic Carbon

POM: Particulate Organic Matter

PON: Particulate Organic Nitrogen

SA: Summer and Autumn

SIMPER: SIMilarity PERcentages

SIMPROF: SIMilarity PROFiles

TEP: Transparent Exopolymeric Particles

T-RFLP: Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism

W-S: Winter and Spring.

Lexique

Bloom : efflorescence massive de microorganismes phytoplanctoniques.

Necton : en opposition au plancton, le necton représente les communautés aquatiques capables de se déplacer contre les courants aquatiques selon leur propre volonté.

Package : bibliothèque de programmes.

Palangre : une palangre est filet muni d'hameçons immergée dans l'eau.

Pycnocline : Couche de forte variation de la densité de la mer en fonction de la profondeur. En général, elle coïncide avec la thermocline. C'est une couche stable, qui limite les mélanges verticaux entre les couches profondes et les couches de surface de la mer.

Liste des figures et tableaux

Chapitre I

Figure I.1 : Dimensions de la biodiversité.....	33
Figure I.2 : Répartition des tailles de la matière organique et des microorganismes marins selon Azam et Malfatti (2007).....	34
Figure I.3 : Arbre phylogénétique schématique représentant la distribution des taxons phytoplanctoniques eucaryotes.....	35
Figure I.4 : Description de la pompe biologique (Turner, 2015)	38
Figure I.5 : Pics de biomasse phytoplanctonique (« blooms ») au printemps et en automne dans les écosystèmes aquatiques tempérés.	39
Figure I.6 : Distribution taxonomique du bactérioplancton marin. Adapté de (Hagström et al., 2002).	40
Figure I.7 : Flux de carbone dirigé par les microorganismes : cas de la neige marine.	44
Figure I.8 : Photographies de MPM de mer Adriatique observés au microscope....	45
Figure I.9 : Pollution des eaux du Golfe de Gascogne. Adaptée de Galgani et al. (1995).	106
Figure I.10 : Bloom phytoplanctonique dans le Golfe de Gascogne.....	107
Figure I.11 : Relevé d'apparition de Liga de le sud du Golfe de Gascogne entre 2010 et 2012.	108

Figures de l'article

Figure 1: Records of MPM events over the World Ocean	50
Figure 2: Monthly occurrence of MPM. The data presented reflects only the effective MPM presence.	51
Figure 3: Biotic and abiotic factors driving mucilage formation.	78
Appendix 1: Non exhaustive list of diatoms producing EPS	102
Appendix 2: Non-exhaustive list of dinoflagellates, <i>Cryptophyceae</i> and <i>Prymnesiophyceae</i> producing EPS.....	103
Appendix 3: Non-exhaustive list of bacteria producing EPS.....	103

Appendix 4: Non-exhaustive list of cyanobacteria producing EPS 104

Chapitre II

Figure II.1 : Carte des stations de prélèvement. 114

Figure II.2 : Diagramme de Gantt de la campagne de prélèvements réalisée en mer et dans l'Adour. 116

Figure II.3 : Filtration séquentielle du Liga. 119

Figure II.4 : Photographie de gel d'électrophorèse. 125

Figure II.5 : Schéma descriptif du principe de la technologie Illumina 128

Figure II.6 : Principe de l'analyse de la diversité fonctionnelle *via* la technique de GeoChip. 130

Figure II.7 : Etapes mises en œuvre lors du prétraitement des données de T-RFLP sur T-Rex. 133

Tableau II.1 : Bilan des différents échantillons collectés sur la campagne de prélèvement. 120

Tableau II.2 : Amorces utilisées pour l'amplification des régions des gènes de l'ARNr 16S et 18S pour la T-RFLP. 123

Tableau II.3 : Liste des amorces utilisée pour les expériences de MiSeq. 129

Tableau II.4 : Catégories de gènes ciblés par la GeoChip 4.0. 131

Chapitre III

Tableau III.1 : Types de prélèvements utilisés pour la comparaison des communautés microbiennes de Biarritz. 142

Figures et tableaux de l'article

Figure 1 : Map of sampling stations. 147

Figure 2: Characterization of sampling conditions recorded at DCMa according to environmental parameters during the one-year sampling campaign. 150

Figure 3: Diversity dynamics over the year within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep

chlorophyll a maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.....	154
Figure 4: Influence of environmental parameters on seawater microbial communities.	158
Figure 5: Heat map representing T-RF distribution in marine mucilage and in the seawater at the DCaM depth.	161
Table 1: Average Shannon diversity indices within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep chlorophyll maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.	153
Table 2: Percent of similarity (SIMPER-tests) within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep chlorophyll maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.	156
Figure S1 : Distribution on T-RFs. Adour River surface (AS) samples are in orange, Biarritz surface (BS) samples are in light blue, Biarritz at the maximum of chlorophyll <i>a</i> (BM) depth are in royal blue, Biarritz bottom seawaters (BB) are in dark blue and marine mucilage (MM) samples are in brown. Samples are represented in the chronologic order, from left to right. T-RFs revealed by the SIMPER-test are noted on the figure.....	167
Figure S2: Venn diagrams indicating the average number of shared T-RFs of each couple of monthly samples of the Adour River freshwater and the Biarritz seawaters at the three deep studied. a) archaea, b) eukaryotes and c) bacteria. AS: Adour subsurface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz mix layer, BB: Biarritz bottom, MM: Biarritz marine mucilage.....	168
Table S1. : Samples collected over one year at three sampling stations in the South Biscay Bay.....	166

Chapitre IV

Figure IV.1 : Boîtes à moustaches représentant la distribution des indices de Shannon des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et du Liga.....	179
Figure IV.2 : Boîtes à moustaches représentant la distribution des indices de Shannon des communautés bactériennes et eucaryotes des différentes fractions du Liga.	180
Figure IV.3 : Analyse en PCoA des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et de la fraction agrégée du Liga à Biarritz et à Tarnos.	186
Figure IV.4 : Analyse en PCoA des communautés eucaryotes des différentes fractions du Liga à Biarritz.....	187
Figure IV.5 : Répartition des T-RF des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer à Tarnos et de la fraction agrégée du Liga de Tarnos.....	190
Figure IV.6 : Répartition des T-RFs des communautés bactériennes des différentes fractions du Liga à Biarritz.....	193
Figure IV.7 : Analyse en CCA des communautés bactériennes et eucaryotes marines à la PMCa (profondeur à laquelle se trouve le Liga)..	196
Tableau IV.1 : Échantillons utilisés pour ce sous-chapitre.....	175
Tableau IV.2 : Pourcentage de similarité au sein des compartiments obtenus par SIMPER-test.....	176
Tableau IV.3 : Pourcentages de similarité au sein des différentes fractions du Liga obtenus par SIMPER-test.	177
Tableau IV.4 : Indices de diversité de Shannon pour les différents compartiments (indices moyennés sur l'ensemble des échantillons pour chaque fraction)....	178
Tableau IV.5 : Indices de diversité de Shannon pour chaque fraction du Liga de Biarritz et de Tarnos (indices moyennés sur l'ensemble des échantillons pour chaque fraction).	180
Tableau IV.6 : Analyse de la variance des T-RFs entre les prélèvements d'eau de mer, de l'Adour, et de la fraction agrégée du Liga par PERMANOVA.	182
Tableau IV.7 : Analyse de la variance des T-RF des prélèvements des différentes fractions de Liga par PERMANOVA.....	182
Tableau IV.8 : Analyse de la variance des T-RFs des prélèvements d'eau de mer et de la fraction agrégée du Liga pour les périodes Hiver-Printemps et Été-Automne par PERMANOVA.....	184

Tableau IV.9 : Analyse de la variance des T-RF des prélèvements des différentes fractions de Liga par PERMANOVA entre les deux saisons d'apparition du Liga (H-P et É-A).	186
Tableau IV.10 : T-RF indicateurs pour les différents compartiments des prélèvements de Tarnos et de l'Adour.	190
Tableau IV.11 : Tableau représentant les T-RF indicateurs des différentes fractions du Liga pour les communautés bactériennes et eucaryotes.	194

Chapitre V

Figure V.1 : Tests de corrélation entre les richesses bactériennes obtenues par la technique de T-RFLP et les richesses obtenues par la technique de MiSeq. .	212
Figure V.2 : Répartition des phyla eucaryotes représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.	213
Figure V.3 : Répartition des classes eucaryotes représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.	214
Figure V.4 : Répartition des taxons eucaryotes majoritairement observés dans les études sur les MPM (représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité) dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.	215
Figure V.5 : Répartition des phyla bactériens représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.	216
Figure V.6 : Répartition des classes bactériennes des phyla <i>Proteobacteria</i> et <i>Bacteroidetes</i> (représentées par les OTU dont les séquences ont au moins 97%) de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.	218
Figure V.7 : Diagramme en boîtes représentant la distribution des indices de Shannon des communautés bactériennes et eucaryotes des différentes fractions du Liga.	220
Figure V.8 : Réseau de distance des communautés bactériennes et eucaryotes.	223

Figure V.9 : Analyse en CCA des communautés bactériennes et eucaryotes de la fraction agrégée du Liga.....	225
Tableau V.1 : Échantillons utilisés dans ce chapitre.....	210
Tableau V.2 : Données obtenues au travers du nettoyage par MOTHUR pour traiter les séquences du gène codant pour l'ARNr 16S des bactéries et de séquences du gène codant pour l'ARNr 18S des eucaryotes.	211
Tableau V.3 : Pourcentages de similarité entre les compartiments étudiés obtenus par SIMPER-test.....	219
Tableau V.4 : Indices de diversité moyenne de Shannon au sein des communautés microbiennes pour chaque fraction du Liga de Biarritz et de Tarnos.	219
Tableau V.5 : Résultats des tests de Tukey effectués sur la diversité estimée des échantillons estimées par l'indice de Shannon.....	220
Tableau V.6 : Variations de la composition en OTU des communautés bactériennes et eucaryotes des différents compartiments d'eau de mer et des différentes fractions de Liga.....	221
Tableau V.7 : Variations des communautés bactériennes et eucaryotes des différents compartiments de Liga par PERMANOVA entre les deux saisons d'apparition du Liga (H-P et É-A).....	224

Chapitre VI

Figure VI.1 : Comparaison des richesses et des indices de diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga pour les saisons É-A et H-P.....	236
Figure VI.2 : Abondance relative et diversité des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga.	238
Figure VI.3 : Analyse en PCoA des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga pour les saisons É-A et H-P.....	239
Figure VI.4 : Analyse en cluster de la diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga.	239

Figure VI.5 : Diagrammes de Venn présentant la répartition des douze catégories gènes fonctionnels dans l'eau de mer et dans le Liga pendant les saisons É-A et HP. BM :.....	241
Figure VI.6 : Analyse en CCA des catégories de gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga.	242
Figure VI.7 : Abondance relative des gènes viraux en fonction des hôtes « cibles » identifiés dans l'eau de mer à la PMCa et dans la fraction agrégée du Liga..	243
Figure VI.8 : Répartition des gènes de métabolisme secondaire significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A.	244
Figure VI.9 : Répartition des gènes de résistance au stress significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A.....	244
Figure VI.10 : Répartition des gènes de virulence significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A.	245

Figures supplémentaires

Tableau S1 : Liste des prélèvements utilisés dans cette étude..	271
Tableau S2 : Variables climatiques utilisées dans cette étude.	272
Tableau S3: Variables environnementales utilisées dans cette étude.....	273
Tableau S4 : Détails de l'analyse en SIMPER-test sur les différents compartiments.	274

- Introduction générale -

Introduction générale

Présents sur notre Terre depuis plus de 3,5 milliards d'années, les microorganismes sont observés dans tous les écosystèmes, même les plus extrêmes, et jouent un rôle majeur dans les cycles biogéochimiques. Dans les océans, les microorganismes interviennent ainsi dans les cycles du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre, occupant un rôle fonctionnel important dans la régulation du climat (Strom, 2008). Les microorganismes des océans constituent notamment le plus grand réservoir actif du cycle du carbone, permettant de contrebalancer partiellement les conséquences de l'augmentation des émissions de CO₂ d'origine anthropique par la séquestration et la sédimentation du carbone sous forme particulaire dans les couches océaniques plus profondes (Turner, 2015).

Depuis quelques décennies et dans le monde entier, des agrégats mucilagineux marins, composés de microorganismes et de matière organique, ont été observés à plusieurs reprises dans les zones pélagiques côtières. Depuis leur première description en 1729 dans la mer Adriatique (Bianchi, 1746), ces phénomènes sont devenus de plus en plus fréquents et abondants. Ainsi, au cours des 20 dernières années, les mucilages marins pélagiques ou MPM (« Marine Pelagic Mucilages » en anglais) sont apparus dans la mer du Nord, le long de la côte Californienne, dans la mer Ariake au sud du Japon, dans plusieurs mers de la mer Méditerranée et le long de deux côtes françaises, dans le nord du Golfe du Lion et dans le sud du Golfe de Gascogne. Dans cette dernière région, les pêcheurs travaillant à proximité du littoral basque et sud-landais ont constaté la présence de MPM depuis les années 2000, localement appelé « Liga ». Depuis ces premières observations, le phénomène s'est amplifié, apparaissant de plus en plus souvent et de plus en plus abondamment. De nos jours, le Liga apparaît en mer deux fois chaque année dans le sud du Golfe de Gascogne, au printemps et à l'automne. Ce Liga se forme dans la zone photique de la colonne d'eau, en dessous de la zone de mélange.

En plus des problèmes qu'il pose dans le secteur de la pêche en détériorant les filets, le Liga pourrait avoir des effets délétères sur la santé humaine. Certaines personnes en contact direct avec le Liga ont d'ailleurs déjà développé des troubles

dermatologiques. De même, en perturbant l'organisation des communautés marines présentes dans les zones où il se forme il peut également avoir des conséquences importantes sur le plan écologique. En effet, il a été constaté que les MPM âgés sédimentant sur le fond de la mer avaient eu des impacts délétaires sur les communautés benthiques en mer Méditerranée, en créant des conditions d'hypoxie provoquant la mortalité massive de ces communautés et entraînant des bouleversements dans les niveaux trophiques supérieurs (Rinaldi et al., 1995; Schiaparelli et al., 2007).

Les études préliminaires ont montré que, comme dans les MPM, le Liga abrite une grande variété d'organismes tels que des bactéries, du phytoplancton et du zooplancton, présents en abondance. Il est enrichi en matière organique d'origine marine et continentale. L'étude des MPM en mer Adriatique avait mis en évidence que leur formation et leur persistance étaient liées à des paramètres environnementaux et climatiques. En effet, l'apparition des MPM en mer Adriatique est reliée dans un premier temps à un déséquilibre des apports en sels nutritifs et en matière organique dans l'eau de mer *via* les déversements fluviaux. Lorsque la température de l'air et de l'eau augmentent, ce déséquilibre entraîne une production massive de matière organique par le phytoplancton qui finissent par s'agréger ensemble. Dans un second temps, les agrégats de phytoplancton et de matière organique sont colonisés successivement, d'abord par du bactérioplancton qui vient dégrader la matière organique, puis par le zooplancton qui se nourrit des microorganismes agrégés (Del Negro et al., 2005; Precali et al., 2005). Enfin, les études en mer Adriatique ont également montré que des conditions océanographiques calmes sont nécessaires au maintien des MPM dans la colonne d'eau, car ceux-ci se désagrègent très facilement.

Cependant, la plupart des études visant à caractériser la diversité spécifique des organismes présents dans les MPM ont été effectuées par des techniques de microscopie optique, principalement sur les communautés eucaryotes. De plus le rôle écologique des communautés microbiennes des MPM dans leur ensemble, comprenant les trois domaines du vivant, n'a jamais été étudié.

Dans ce contexte, le travail présenté dans ce mémoire de thèse vise à caractériser les communautés microbiennes marines côtières dans différents compartiments (colonne d'eau à différentes profondeurs, MPM local) afin de mieux comprendre leur rôle dans la dynamique de formation des mucilages observés dans le sud du

Golfe de Gascogne. A cette fin des techniques moléculaires explorant la structure des communautés, leur composition et leurs capacités fonctionnelles ont été mises en œuvre. Ce travail s'inscrit dans le programme de recherche pluridisciplinaire PERMALA-LIGA (PERTurbations et Milieux Aquatiques Littoraux Aquitains) qui avait pour objectif d'étudier (i) les facteurs biotiques et abiotiques à l'origine du Liga les mécanismes mis en jeu dans sa formation et son évolution, (ii) d'estimer la dispersion spatiale du Liga, (iii) de déterminer si le Liga peut concentrer des polluants, des contaminants, ou des microorganismes pathogènes et ainsi présenter un danger sanitaire et (iv) de retracer l'historique des apparitions du Liga dans le sud du Golfe de Gascogne. Ce projet a été financé par le Conseil Régional Aquitaine, l'agence de l'eau Adour-Garonne et France Filière Pêche.

Ainsi la composition des communautés microbiennes (archées, bactéries et eucaryotes) et l'organisation de ces communautés ont été suivies pendant un an dans différents compartiments comprenant l'eau de mer, le Liga et l'Adour qui est le fleuve à proximité de la zone de formation du Liga. Ces données ont été mises en relation avec les paramètres environnementaux et climatiques afin de déterminer leur influence sur la formation et la persistance du Liga. Deux sites de prélèvement ont été étudiés sur la base d'une étude préliminaire sur le Liga réalisée entre 2010 et 2012 dans le sud du Golfe de Gascogne: un faiblement marqué par la présence de Liga, un site où la présence de Liga était plus fréquemment observée.

Les chapitres III et IV apportent une description globale des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et du Liga par une technique d'empreintes moléculaires, la T-RFLP. Le chapitre V s'attache à étudier la diversité taxonomique des communautés de l'Adour, de l'eau de mer et du Liga par une technique de séquençage à haut débit MiSeq. T-RFLP et Miseq ciblent la petite sous-unité du gène de l'ARN ribosomique procaryote et eucaryote. Le chapitre VI porte sur la comparaison de la diversité fonctionnelle de l'eau de mer et du Liga.

- Chapitre I -

Synthèse bibliographique

1. Les écosystèmes microbiens côtiers

1.1. Quelques définitions liées aux écosystèmes

1.1.1. L'organisation des écosystèmes

La notion d'écosystème a été créée par le botaniste anglais Arthur George Tansley en 1935, par contraction de l'expression « ecological system ». **L'écosystème** est défini par sa **biocénose** qui est sa communauté d'organismes vivants, et par son **biotope** qui est l'environnement abiotique dans lequel évoluent ces organismes vivants (Whittaker, 1962). La biocénose et le biotope sont en perpétuelle interaction. Ces interactions peuvent se faire entre les êtres vivants (intra-spécifique et interspécifique) et entre les êtres vivants et leur biotope. L'ensemble des interactions participe à la dynamique de l'écosystème par la modification permanente de ses composantes biotiques et abiotiques. L'étude des microorganismes au sein des écosystèmes, discipline créée par Thomas L. Brock, est appelée **l'écologie microbienne** (Brock, 1966).

Les **biomes** désignent les grands ensembles de biotopes. Ce sont des ensembles écologiques présentant une grande uniformité sur une vaste surface et où dominent les mêmes conditions climatiques. Par exemple, la zone pélagique des océans est un biome. Le terme de **communauté** désigne un ensemble de populations qui interagissent entre elles dans une région donnée. Une **population** est un ensemble géographiquement localisé d'individus appartenant à la même espèce. Les **espèces** sont des groupes de populations naturelles, effectivement ou potentiellement interfécondes, qui sont génétiquement isolées d'autres groupes similaires selon la définition de Mayr en 1942. Pour les microorganismes, les espèces sont définies en prenant compte à la fois des caractères génotypiques, principalement basés sur l'analyse de la similitude du gène codant pour l'ARNr 16S, et phénotypiques (Achtman and Wagner, 2008). Les communautés occupent des **niches écologiques** qui sont définies par la position spatiale et fonctionnelle des organismes y vivant. En d'autres termes, il s'agit de l'habitat dans lequel les populations vivent et prospèrent, de la période de temps où elles y sont présentes et des ressources qu'elles tirent de cet habitat. Les écosystèmes sont des systèmes ouverts et

dissipatifs. Dans le cadre des écosystèmes microbiens, ils sont souvent composés d'un très grand nombre d'espèces différentes et notamment de bactéries, d'archées, de protistes et de champignons microscopiques (ainsi que de virus qui ne sont pas tout à fait considérés comme des êtres vivants dans la plupart des études). La dynamique de ces écosystèmes est dirigée par un grand nombre de facteurs environnementaux. De même, les interactions entre les différentes espèces d'un écosystème et les interactions entre les espèces et leur environnement sont très nombreuses, formant parfois des boucles rétroactives (voir § 1.2.2.2 pour plus de détails). Ainsi, l'étude de l'ensemble d'un écosystème est très complexe et il est difficile de comprendre avec exactitude son évolution (Frontier et al., 2008).

1.1.2. La diversité biologique des écosystèmes

La diversité biologique, plus souvent appelée **biodiversité**, est la diversité totale des écosystèmes présents à diverses échelles spatiales (depuis les gènes jusqu'aux biomes). En d'autres termes, elle représente « la variabilité des organismes vivants de toute origine y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité des espèces au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes »^{*1}.

La biodiversité contient trois dimensions (Noss, 1990):

- la **composition** qui représente l'ensemble des espèces observées.
- la **structure** qui est décrite par la manière dont les espèces observées s'organisent entre elles.
- la **fonction** qui est définie par la diversité des traits fonctionnels d'un écosystème, ces traits étant des composantes du phénotype des organismes qui influencent des processus écosystémiques.

^{*1} Extrait du texte de la convention sur la diversité biologique tenue en 1992 à Rio de Janeiro lors de la conférence des Nations Unies. Le texte intégral est disponible sur: www.cbd.int/doc/legal/cbd-fr.pdf.

Ces trois dimensions peuvent s'observer à chaque niveau de l'écosystème, c'est à dire au niveau génétique, au niveau spécifique, à l'échelle des population, au niveau des communautés ou même au niveau des écosystèmes entiers (Noss, 1990) .

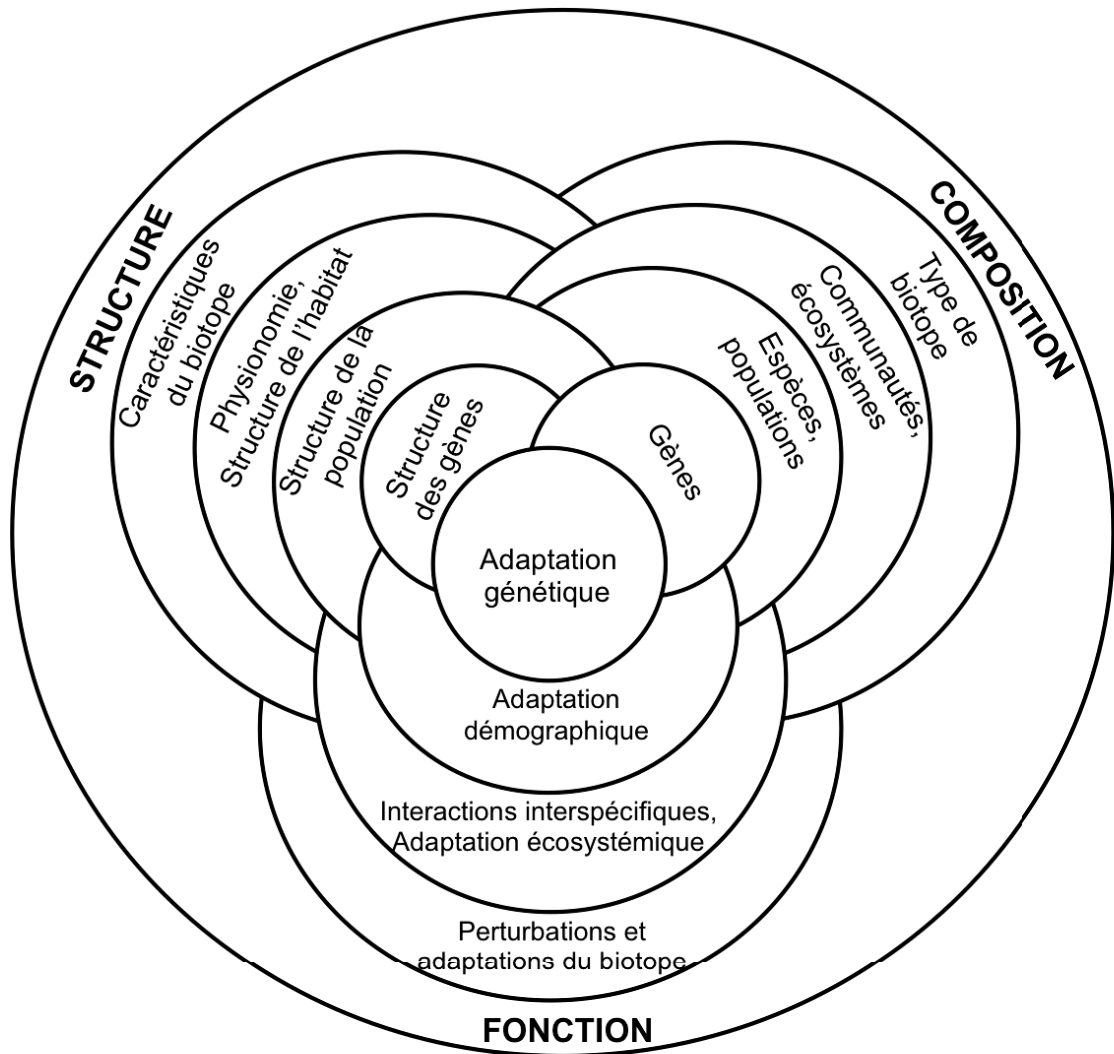


Figure I.1 : Dimensions de la biodiversité. Cette figure est adaptée de Noss (1990).

Dans cette étude, nous traiterons les trois dimensions de la biodiversité, dans les trois domaines du vivant.

1.2. Diversité et rôle écologique des écosystèmes microbiens côtiers

Avec 312000 km de côtes dans le monde pour un volume de $2,03 \times 10^{20} \text{ cm}^3$, l'écosystème côtier est l'un des plus grands écosystèmes de notre planète. Les microorganismes côtiers, qui comptent la plus grande diversité spécifique parmi tous les organismes présents en zone côtière, sont aussi appelés « plancton ». En effet, le plancton, du grec *planktos* signifiant errant, se définit par « l'ensemble des organismes pélagiques susceptibles d'être entraînés par le déplacement des eaux » (Bougis, 1974). Les différents organismes planctoniques sont classés selon leur taille, leur nature, les caractéristiques biologiques de leur cycle de développement, leur répartition verticale sur la colonne d'eau ou le type d'environnement qu'ils peuplent. Dans le cadre de cette étude, nous aborderons le bactérioplancton, le phytoplancton et le zooplancton (figure I.2). Le bactérioplancton se classe parmi le picoplancton ($0,2\text{-}2 \mu\text{m}$) et regroupe la majorité des bactéries et des archées. Le phytoplancton appartient à la fois au picoplancton, au nanoplancton ($2\text{-}20 \mu\text{m}$), au microplancton ($20\text{-}200 \mu\text{m}$) et plus rarement au mésoplancton ($0,2\text{-}20 \text{ mm}$) ; il regroupe les microorganismes eucaryotes et procaryotes photosynthétiques. Le zooplancton se rassemble majoritairement dans le microplancton, le mésoplancton et le macroplancton ($2\text{-}20 \text{ cm}$). Il constitue la partie animale du plancton et se nourrit essentiellement de phytoplancton.

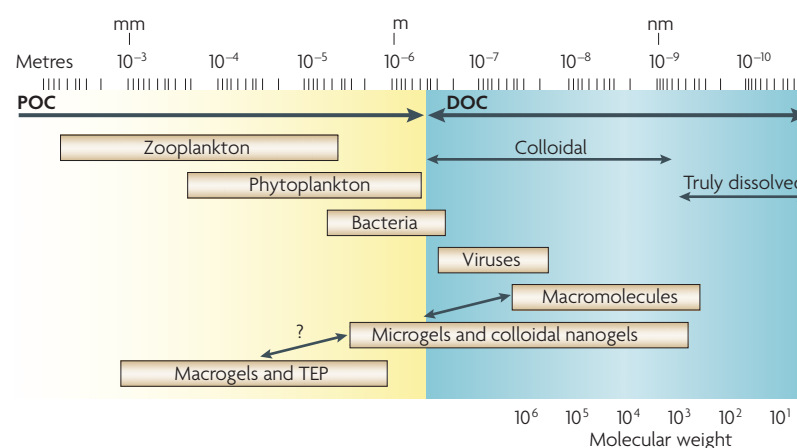


Figure I.2 : Répartition des tailles de la matière organique et des microorganismes marins selon Azam et Malfatti (2007). POC : carbone organique particulaire, DOC : carbone organique dissous, TEP : particules exopolymériques transparentes.

1.2.1. Le phytoplancton

1.2.1.1. Diversité du phytoplancton

Le phytoplancton est responsable de 95% de la production primaire marine (Steeman Nielsen, 1975). Il a été estimé que les concentrations de phytoplancton dans les eaux côtières varient de 10^4 à 10^7 cellules par litre d'eau de mer (Hulburt, 1962). Les principaux taxons de phytoplancton marin sont, du plus abondant au moins abondant : les diatomées, les dinoflagellés, et les haptophytes, qui sont des eucaryotes ; et les cyanobactéries qui sont des procaryotes (Valiela, 2013).

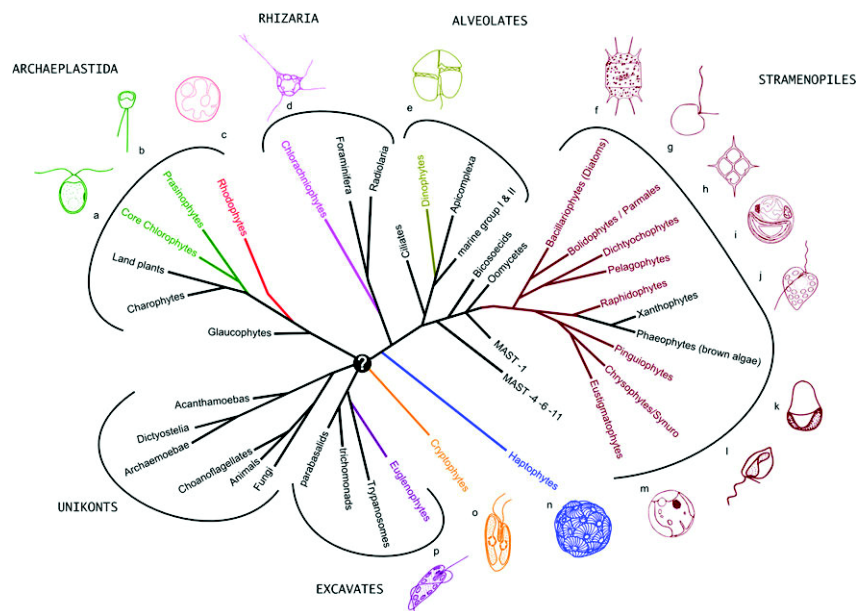


Figure I.3 : Arbre phylogénétique schématisé représentant la distribution des taxons phytoplanctoniques eucaryotes. Les illustrations représentent (a) un *Chlorophyceae*, (b) *Pseudoscourfieldia* sp., (c) *Porphyridium cruentum*, (d) *Gymnochlora dimorpha*, (e) un dinoflagellé, (f) *Odontella* sp., (g) *Bolidomonas pacifica*, (h) *Dictyocha* sp., (i) *Aureococcus anophagefferens*, (j) *Heterosigma akashiwa*, (k) *Pinguiochrysis pyriformis*, (l) *Ochromonas* sp., (m) *Nannochloropsis salina*, (n) *Calcidiscus* sp., (o) *Cryptomonas* sp., (p) des euglenidés. Cette figure provient de Not et al. (2012).

1.2.1.2. Rôle écologique du phytoplancton

1.2.1.2.a) Rôle écologique général

Le phytoplancton a le rôle de producteur primaire dans le réseau trophique. Il transforme ainsi le CO_2 atmosphérique dissous dans les couches supérieures de

l'eau de mer en carbone organique qui sera par la suite en partie consommé par les organismes hétérotrophes (Takahashi et al., 2002), ou séquestré dans la lithosphère par le processus de pompe biologique. Le terme « production primaire » désigne en écologie la production de matière organique végétale, sous forme de biomasse végétale ou de matière organique sécrétée, issue de la photosynthèse, par des organismes autotrophes, dits producteurs primaires. Cette production de carbone organique, réalisée par photosynthèse, nécessite de l'énergie lumineuse. La production de matière organique par le phytoplancton suit une dynamique saisonnière, qui rythme l'organisation des niveaux trophiques supérieurs qui en dépendent directement ou indirectement (Margalef, 1958).

1.2.1.2.b) La pompe biologique

La pompe biologique est le procédé par lequel le CO₂ fixé par photosynthèse est exporté au fond de l'océan, résultant en une séquestration temporaire ou permanente de ce carbone dans la lithosphère. Ainsi séquestré, le carbone peut mettre des milliers voire des millions d'années à revenir dans l'atmosphère. Très récemment, il a été estimé que deux tiers des flux verticaux de carbone dans les océans sont dus à la pompe biologique (Passow and Carlson, 2012).

La production primaire nette par le phytoplancton est estimée à 5,425 kilos de carbone par mètre carré et par an dans les océans. Dans les écosystèmes côtiers, les diatomées sont les contributeurs principaux de la production primaire, et les dinoflagellés arrivent en seconde position (Valiela, 2013). Le CO₂ dissous dans l'eau de mer est converti par le phytoplancton en carbone organique, dissous (Carbone Organique Dissous, COD) ou particulaire (Carbone Organique Particulaire, COP) par réaction de photosynthèse (Takahashi et al., 2002). Cela permet au phytoplancton d'assurer son métabolisme interne et sa reproduction. La matière organique produite peut aussi être sécrétée. Il s'agit principalement de composés carbonés, qui sont sécrétés sous forme dissoute ou particulaire.

A partir de cette étape, le carbone organique va subir deux types de transport : horizontal au sein de la couche pélagique et vertical vers le benthos. La structure des réseaux trophiques planctoniques joue un rôle déterminant dans les proportions de CO₂ fixé par le phytoplancton qui sont minéralisées par les microorganismes et les proportions de COP rendues disponibles pour les réseaux trophiques supérieurs.

La pompe biologique concerne uniquement les flux verticaux. Deux types principaux de transport verticaux de la matière organique peuvent être distingués: le transport actif via les organismes effectuant des migrations verticales et le transport passif via la sédimentation de particules détritiques plus denses que l'eau telles que les cellules phytoplanctoniques mortes ou sénescents, les cadavres d'animaux de toutes tailles, les pelotes fécales, les débris organiques divers et les agrégats marins sédimentant. Ce flux de carbone vers les profondeurs décroît progressivement. La pompe biologique est ainsi responsable de l'export de 5 à 25% (en moyenne 10%) de carbone organique vers la zone mésopélagique et de 3% de l'export de carbone organique vers la zone bathypélagique (De La Rocha et al., 2008; Martin et al., 1987, 2011). La quantité de carbone organique exportée dans les couches plus profondes de l'océan est estimée à plus de 10 milliards de tonnes par an (Buesseler and Boyd, 2009).

Le carbone soumis au transport horizontal reste dans la zone pélagique et est consommé ou respiré par les microorganismes hétérotrophes marins. Il peut ainsi être métabolisé dans la boucle microbienne ce qui entraîne sa reminéralisation (Ducklow et al., 2001); ou consommé par d'autres organismes marins de rang supérieur dans le réseau trophique de la zone pélagique, tel que le zooplancton ou le necton (Azam and Malfatti, 2007; Calbet and Landry, 2004; Hernández-León and Ikeda, 2005). Ces différents événements sont synthétisés dans la figure I.4 décrivant la pompe biologique.

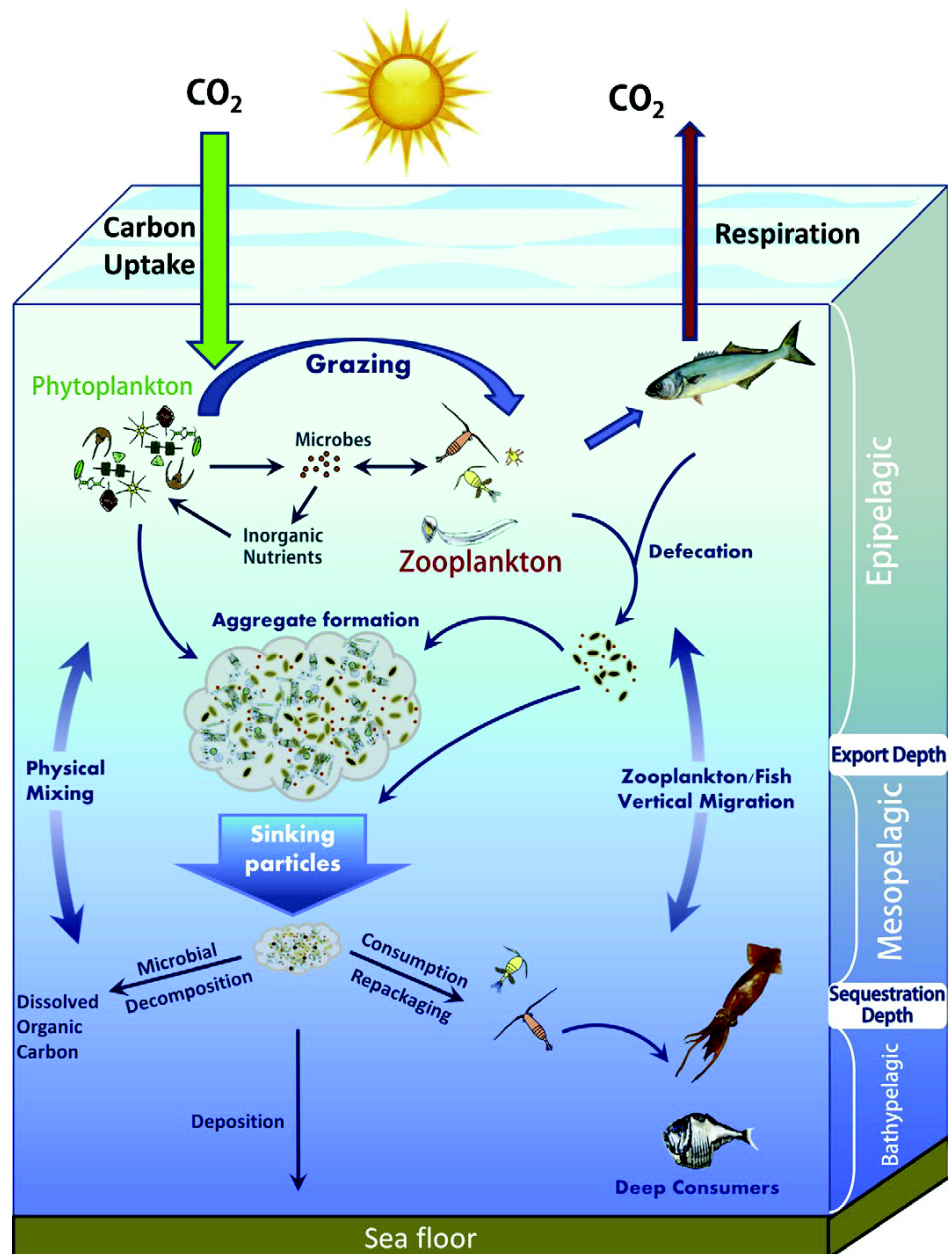


Figure I.4 : Description de la pompe biologique selon Turner (2015).

1.2.1.2.c) Cas particulier des blooms

Le phytoplancton a la capacité de faire des « blooms », autrement dit, de se reproduire massivement sur une courte période en réponse aux conditions environnementales. Classiquement dans les eaux tempérées, deux blooms phytoplanctoniques ont lieu chaque année : un bloom avec une importante augmentation de la biomasse plus importante au printemps, et un bloom de plus faible amplitude en automne (figure I.5). Selon Thorpe (1996), dans les écosystèmes côtiers les conditions nécessaires à la formation d'un bloom sont :

- une disponibilité suffisante en azote et en phosphore pour tous les taxons. Les diatomées auront aussi besoin de silice et les coccolithophores de calcium.
- une irradiation suffisante, ce qui veut dire qu'il faut un bon ensoleillement et une faible turbidité.
- un déséquilibre ou un décalage entre la reproduction algale et leur broutage par des organismes herbivores.

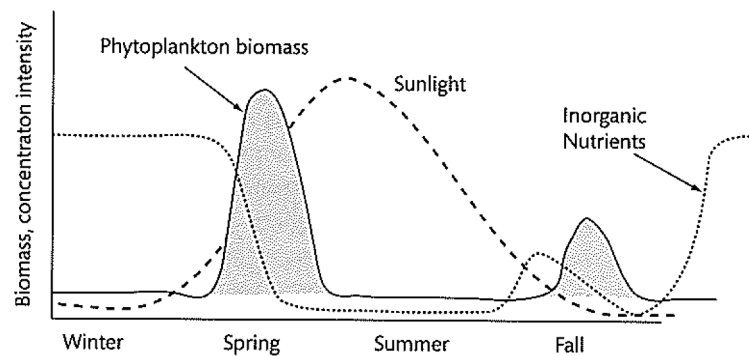


Figure I.5 : Pics de biomasse phytoplanctonique (« blooms ») au printemps et en automne dans les écosystèmes aquatiques tempérés. Les nutriments inorganiques incluent le nitrate, le phosphate et les silicates. Figure issue de Kirchman (2012).

1.2.2. Le bactérioplancton

1.2.2.1. Diversité du bactérioplancton

La quantité de bactéries en zone côtière est estimée à 5×10^5 unités par millilitre d'eau de mer (Whitman et al., 1998) et la diversité microbienne totale dans les océans est de l'ordre de plusieurs millions d'espèces différentes (Sala and Knowlton, 2006). Dans la mer des Sargasses, Venter et al. (2004) ont estimé qu'avec une bonne couverture de séquençage, la richesse présente dans un échantillon d'eau de mer de 1500 litres serait de 48000 espèces (1800 ont été déterminées dans l'étude).

Le bactérioplancton comprend les bactéries et les archées. Les bactéries se divisent en 25 phyla selon Brands (1989). Les bactéries les plus abondantes dans l'eau de mer sont les bactéries à Gram négatif qui représentent environ 90% des espèces bactériennes marines (Das et al., 2006). Le phylum des *Proteobacteria*, plus adapté

à résister à la salinité de l'eau de mer, y est de loin le plus présent (63%) selon la méta-analyse ciblant le gène codant pour l'ARNr 16S bactérien de Hagström et al. (2002) (figure I.6). Dans ce phylum, les deux classes les plus abondantes dans l'eau de mer sont les *Alphaproteobacteria* et les *Gammaproteobacteria*. Concernant les cyanobactéries*², les principales espèces observées dans l'eau de mer sont les genres *Synechococcus*, *Prochlorococcus* et *Trichodesmium* (Kirchman, 2012).

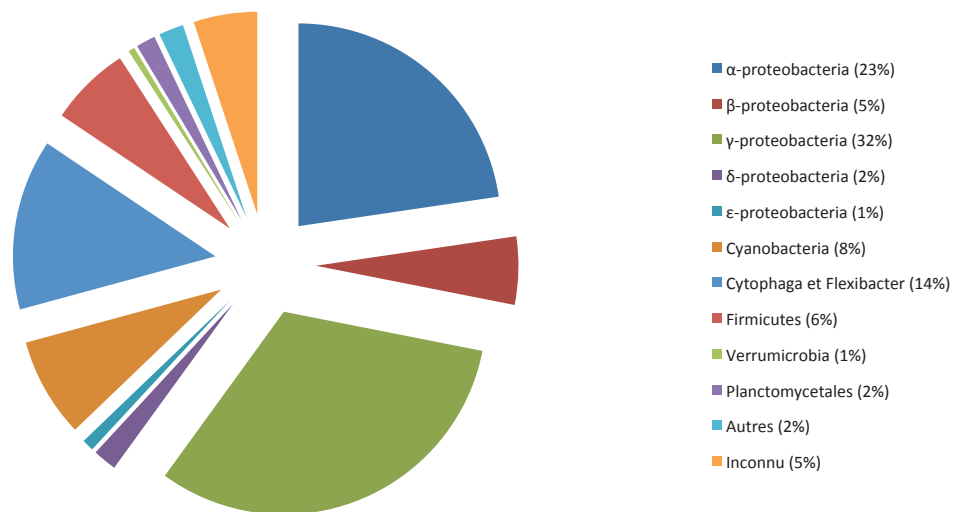


Figure I.6 : Distribution taxonomique du bactérioplancton marin. Adapté de Hagström et al. (2002). Les proportions de chaque subdivision taxonomique ont été ajustées en fonction du nombre de séquences consensus retenues pour l'évaluation de la distribution taxonomique du bactérioplancton cultivé et non-cultivé.

*² Les cyanobactéries sont le plus souvent considérées comme faisant partie du phytoplancton de part leur activité autotrophe. Cependant, étant donné que cette étude est réalisée par domaine du vivant, nous les présenterons ici avec le reste du bactérioplancton.

Les archées se divisent en quatre phyla : les *Crenarchaeota*, les *Euryarchaeota*, les *Nanoarchaeota* et les *Korarchaeota* (Brands, 1989). D'abord associées aux milieux extrêmes où ils ont été découverts ; ces microorganismes ubiquitaires restent peu étudiés de nos jours en comparaison des bactéries. Les phyla les plus observés dans la mer sont les *Euryarchaeota* et les *Crenarchaeota* (Garcia-Martinez and Rodriguez-Valera, 2000; Giovannoni and Stingl, 2005).

1.2.2.2. Rôle écologique du bactérioplancton : la boucle microbienne

Le rôle écologique des archées dans l'eau de mer reste très peu connu. Cependant il a été mis en évidence que le phylum des *Crenarchaeota* est capable d'oxyder les dérivés azotés. Sachant que ce phylum peut représenter 40% de la communauté microbienne mésopelagique, il joue donc un rôle majeur dans le cycle de l'azote (Könneke et al., 2005; Wright et al., 1997; Wuchter et al., 2006).

En revanche, le rôle écologique des bactéries est très étudié. En effet, celles-ci sont des composantes essentielles de « la boucle microbienne » marine. Le terme de boucle microbienne, « microbial loop » en anglais, a été introduit par Azam et al. (1983). Elle décrit la déviation de la voie classique de la chaîne trophique marine dans laquelle la matière organique dissoute (MOD) retourne dans les réseaux trophiques supérieurs via leur incorporation et leur minéralisation par les bactéries. L'efficacité de la boucle microbienne dépend essentiellement de la concentration des bactéries dans l'eau de mer (Taylor and Joint, 1990). L'abondance des bactéries y est principalement contrôlée par le broutage opéré par les flagellés hétérotrophes et les ciliés (Hahn and Höfle, 2001; Jurgens and Massana, 2008) ; et par la lyse consécutive à l'action des bactériophages (Fuhrman, 1999). De plus, la lyse virale augmente le relargage de MOD dans l'eau de mer, ce qui diminue le rendement de la boucle microbienne. Dans les zones côtières, l'efficacité de la boucle microbienne est en général réduite à cause de l'eutrophisation (Fenchel, 2008). Dans ce cas, le réseau trophique qui s'établit est de type herbivore, et donc majoritairement dominé par le phytoplancton ; alors que le réseau trophique des eaux marines oligotrophes est plutôt dominé par la boucle microbienne où le bactérioplancton hétérotrophe représente un réel compétiteur du phytoplancton (Kirchman, 2012).

1.3. Impact de l'anthropisation et des changements climatiques sur les écosystèmes microbiens côtiers

1.3.1. Impact des activités humaines

Les activités humaines peuvent modifier la biodiversité marine par l'intermédiaire de trois processus principaux (Sala and Knowlton, 2006) :

- en modifiant les réseaux trophiques. En effet, la pêche d'animaux qui se trouvent à la base des réseaux trophiques accélère le taux de renouvellement des communautés microbiennes et favorise leur développement.
- en provoquant des mortalités massives d'organismes marins à cause de la pollution.
- en facilitant la dominance d'espèces envahissantes par l'eutrophisation.

1.3.2. Changements climatiques

L'écosystème microbien marin est un bon indicateur pour étudier l'influence des changements climatiques sur les écosystèmes (Taylor et al., 2002) car :

- Contrairement aux organismes nectoniques, les communautés microbiennes ne sont pas victimes de la surpêche à des fins commerciales. Les changements observés dans les communautés microbiennes marines sont donc essentiellement liés à leur biotope.
- Le renouvellement de communautés microbiennes marines est très rapide. Ainsi ces communautés sont peu ou pas influencées par les communautés microbiennes présentes les années précédentes.
- Les communautés microbiennes marines sont libres dans l'eau et ont un déplacement actif limité. Elles sont donc influencées directement par les courants marins.
- Enfin, les communautés microbiennes marines sont très sensibles aux changements de leur milieu.

D'après le dernier rapport de l'« Intergovernmental Panel on Climate Change » (IPCC), le phytoplancton est, loin devant, la communauté d'organismes marins la plus touchée par le réchauffement climatique (IPCC, 2014). Les changements

climatiques récents ont ainsi entraîné un décalage dans l'apparition des blooms de phytoplancton. En effet les blooms printaniers et automnaux de phytoplancton, apparaissant en général aux mois d'Avril et de Septembre entre 1958 et 1980, ont eu tendance à apparaître quelques jours plutôt plus tôt entre 1981 et 2002. Les blooms de dinoflagellés, qui avaient plutôt lieu à la fin de l'été et qui étaient présents au mois d'Aout dans la fin des années 1900, ont également été avancés de plusieurs semaines (Edwards and Richardson, 2004). Il a également été montré par modélisation mathématique que si l'augmentation du CO₂ atmosphérique reste constante, une augmentation de 40% à 200% de l'activité de photosynthèse du phytoplancton est attendue, allant de pair donc avec une augmentation de l'exsudation polysaccharidique et ainsi une augmentation de la biomasse phytoplanctonique générale (Schippers, P. et al., 2004). De plus, les changements climatiques récents ont entraîné une migration latitudinale vers les pôles du zooplancton, ce qui diminue ainsi le broutage dans les zones où il était à l'origine (Hays et al., 2005).

2. Un écosystème un peu particulier : les agrégats marins

2.1. Un agrégat marin très courant : la neige marine

Dans toutes les mers du monde : il neige ! La neige marine représente les agrégats marins de taille supérieure à 0,5 mm de diamètre. Elle est composée de bactérioplancton, de phytoplancton, de zooplancton, de pelotes fécales et d'autres composants organiques plus ou moins muqueux (Kjørboe, 2003). Ce phénomène est très courant dans le monde et peut constituer jusqu'à 63% de la totalité du COP des océans (Alldredge and Silver, 1988). La neige marine apparaît généralement après les blooms phytoplanctoniques et correspond à une agrégation massive du phytoplancton présent dans la colonne d'eau (Logan et al., 1995; Smetacek, 1985). Cette agrégation se produit lorsque le phytoplancton est abondant (Hill, 1992), et que la concentration en matière organique dans l'eau de mer est élevée et riche en substances polymériques extracellulaires (Extracellular Polymeric Substances, EPS

en anglais) et notamment en particules exopolymériques transparentes (Transparent Exopolymeric Particles, TEP en anglais) qui sont un type d'EPS particulièrement abondant dans les agrégats marins (Jackson, 2001; Passow and Alldredge, 1994). La neige marine est donc un environnement très riche en matière organique, colonisé par le bactérioplancton qui vient s'en nourrir. De même, la neige marine est également colonisée par des flagellés et du zooplancton qui viennent y chercher leur proies (Kiørboe, 2003). La dissolution de la matière organique particulaire (MOP) par les bactéries et leur lyse par les prédateurs entraîne l'augmentation de la matière organique dissoute (MOD) dans la colonne d'eau qui sera utilisée dans la boucle microbienne. Cependant, la dégradation de la MOP par les bactéries est peu efficace et le devenir majeur de la neige marine est la sédimentation vers le benthos. Ainsi, ce phénomène participe à la séquestration du carbone dans les couches profondes des océans (figure I.7).

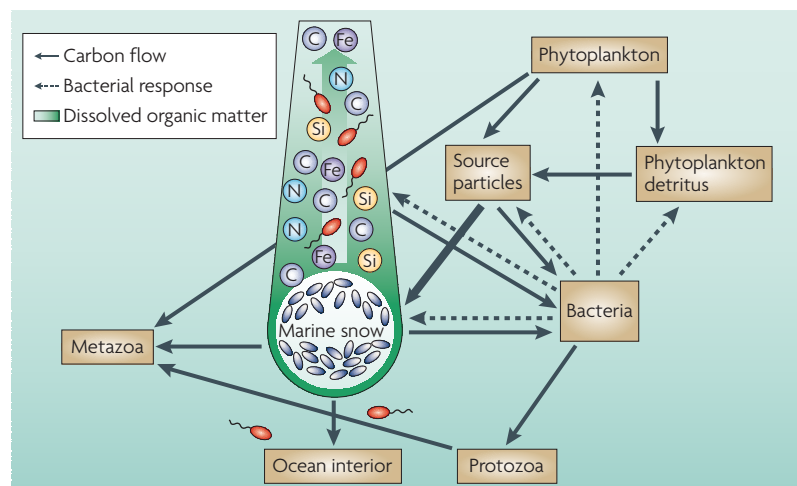


Figure I.7 : Flux de carbone dirigé par les microorganismes : cas de la neige marine. Image extraite de Azam and Malfatti (2007).

2.2. Un agrégat marin plus atypique : Les mucilages marins pélagiques

2.2.1. Introduction

Les mucilages marins pélagiques (MPM) sont des phénomènes d'agrégation beaucoup plus massifs que la neige marine. En effet, leur taille varie de 0,5 cm à

plusieurs centaines de kilomètres. Malgré leur grande taille, les MPM sont essentiellement composés de microorganismes, et leur structure microscopique « en forme de nid d'abeilles » offre une niche écologique privilégiée pour ces microorganismes (figure I.8).

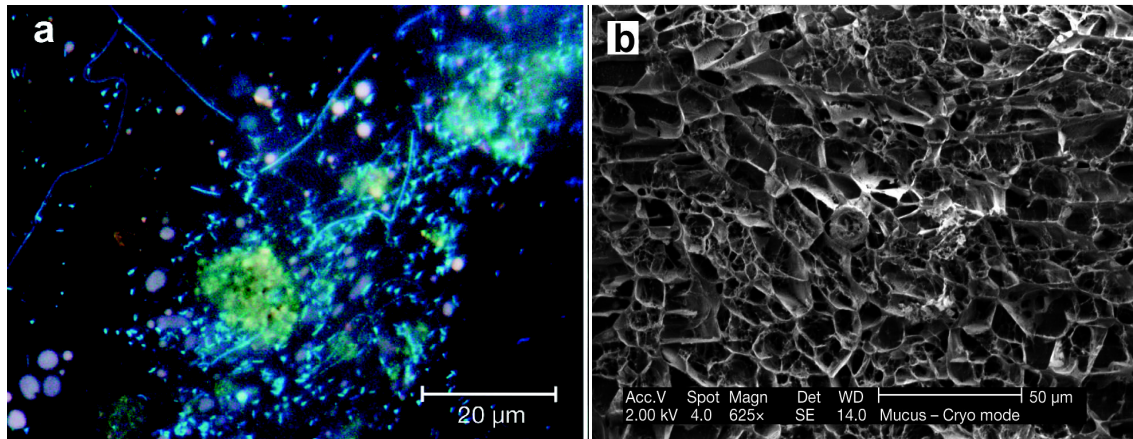


Figure I.8 : Photographies de MPM de mer Adriatique observées au microscope. a) Observation au microscope à épifluorescence de MPM coloré au DAPI, b) observation au microscope électronique de MPM. Figure adaptée de Turk et al. (2010).

Moins courant que la neige marine, les MPM restent mal connus en dehors des zones fortement impactées. De nouvelles zones d'apparition de MPM ont été identifiées au cours de cette dernière décennie, et ce phénomène semble de plus en plus fréquent et abondant dans le monde entier (Balkis et al., 2010; Danovaro et al., 2009; Fukao et al., 2009; MacKenzie et al., 2002; Tüfekçi et al., 2010). Ainsi, les MPM deviennent un sujet de recherche scientifique de plus en plus important, dont le but est d'identifier les causes de leur présence dans les mers et océans et d'évaluer les impacts écologiques et sociaux-économiques pouvant découler de leur présence. Or, bien que la littérature soit riche d'informations sur les MPM dans le monde, l'accès à cette information reste difficile à cause des nombreuses appellations différentes désignant ce phénomène, et du manque de définition et de description exacte et universelle. Les seules classifications connues à ce jour sont celles de Precali et al. (2005) et de Stachowitsch et al. (1990), mais ces classifications ne prennent en compte que le MPM de mer Adriatique.

2.2.2. Mucilages marins dans les écosystèmes côtiers

Ainsi, nos recherches sur l'écologie des MPM et sur ses conditions de formation ont abouti à l'écriture d'une revue qui sera soumise pour publication à « Estuarine, Coastal and Shelf Science ». Pour simplifier la lecture de la revue, nous l'avons détachée de la numérotation du reste de ce chapitre en commençant les numéros de paragraphes par des chiffres romains au lieu des chiffres arabes.

Marine mucilages in coastal pelagic ecosystems: an ecological review

Vanessa Rouaud^a, Nicolas Susperrégui^b, Yolanda Del Amo^c, Philippe Gaudin^d, Rémy Guyoneaud^a, Béatrice Lauga^a, Robert Duran^a.

^aÉquipe Environnement et Microbiologie, UMR IPREM-EEM 5254, Université de Pau et des Pays de l'Adour (Pau, France)

^bInstitut des milieux aquatiques (Bayonne, France)

^cÉcologie et Biologie des systèmes Côtiers (ECOBIOC, Bordeaux, France), ^d: UPPA-UMR ECOBIOP, Pôle d'Hydrobiologie INRA (Saint Pée sur Nivelle, France)

The two first authors contributed equally to the redaction of this review

Corresponding author : Vanessa Rouaud, vanessa.rouaud@univ-pau.fr

The appearance of marine pelagic mucilages (MPM) is not a new phenomenon as it is documented since 1729 in the Adriatic Sea and 1860 in Tasmania. However, it seems that their frequency and their geographical distribution increase since the late 1980s. MPM are clearly associated with phytoplankton blooms, mainly diatoms, and secretory processes resulting from specific trophic, oceanographical, hydrological and climatological conditions leading to the formation of TEP and concentrate a wide variety of organisms such as phytoplankton, bacteria, viruses and zooplankton. Although those aspects are well identified, the interrelations between species and their role in the life cycle of MPM are very complex and not well understood. MPM are correlated with climatic change which creates favorable conditions for their appearance by reducing freshwater and nutrient inputs in the coastal zone, favoring the spreading of coastal fronts, increasing sea surface water and salinity which favor strong pycnocline, modifying current patterns and, as a consequence, changing on planktonic assemblages.

Introduction

Varied sorts of mucilaginous or gelatinous material are repeatedly observed in coastal areas. Since the first description in 1729 in the Mediterranean Sea (Bianchi, 1746), these events have been observed in diverse regions over the world as for example the Adriatic Sea, the English North Chanel, the California coast, the Japan Sea and the South of the Bay of Biscay (MacKenzie et al., 2002; Fukao et al., 2009; (Alldredge and Crocker, 1995, Green and Dagg, 1997a, Lancelot, 1995). Sporadic and some times episodic events, they correspond to marine aggregates larger than 0.5 cm. Also named marine pelagic mucilages (MPM), these aggregates can cover hundreds kilometers of coastline (Rinaldi et al. 1995 ; Precali et al., 2005 ; Danovaro et al., 2009).

MPM are distinguished from marine benthic mucilages (MBM) (Sartoni et al., 2008) as they are formed in the pelagic environment (Degobbis et al., 1998; Giani et al., 1992; Herndl et al., 1992; Malej et al., 1995; Precali et al., 2005) during seasonal phytoplankton production (late winter, early spring and fall). In contrast, for marine benthic mucilages (MBM) the principal mucilage producers are benthic macro algae (Sartoni and Sonni, 1991). Due to their buoyancy MPM can either rise to the surface or settle to the bottom, they can thus be misidentified with MBM. In this review, we will exclusively focus on marine pelagic mucilages (MPM).

MPM have been characterized at the chemical (Berto et al., 2005; Giani et al., 2005), structural (Svetlicic et al., 2011; Turk et al., 2010) and biological (Del Negro et al., 2005; Totti et al., 2005) levels. They originate from the coalescence of non-settling early marine snow, macroscopic aggregates from 0.5 mm to 5 mm (Alldredge and Silver, 1988; Fogg, 1995; Suzuki and Kato, 1953). MPM are described as amorphous masses of organic and inorganic materials maintained in the photic zone (Fogg, 1995; Kepkay et al., 1993; Kiørboe et al., 1998) where diverse microorganisms (phytoplankton, bacteria, and zooplankton), inorganic detritus and fecal pellets are aggregated. The MPM matrix is mainly composed of marine-microorganisms-produced transparent exopolymeric particles (TEP; Pistocchi et al., 2005; Urbani et al., 2005), which play a pivotal role in global carbon cycling (Chen and Thornton, 2015; Thornton 2002).

During the last decades, marine mucilages have been reported as repeated events and trends toward intensification of MPM events over the two last centuries

highlighted (Danovaro et al., 2009). The frequency of appearance of massive MPM is also increasing in the oceans and seas worldwide, particularly in the Mediterranean Sea (Gotsis-Skretas 1995, Innamorati 1995). Although it is difficult to really appreciate the increased frequency and magnitude of the phenomenon from the heightened scientific attention, it is hypothesized that the phenomenon and its repeated advent could be linked with global climate change (Danovaro et al., 2009). It is thus important to better understand the phenomenon, particularly the factors that trigger its advent. Several factors including nutritive conditions (Ahel et al., 2005; Degobbis et al., 2005), meteorological conditions (Deserti et al., 2005; Russo et al., 2005), oceanographic and hydrologic conditions (Grilli et al., 2005) have been investigated. In order to predict their occurrence, satellite survey (Gigliotti, 2013) and MPM formation modeling (Jannelli et al., 2003) have been implemented. However, a global view of MPM occurrences over the world is crucially needed in order to determine general rules underpinning the phenomenon. MPM have also adverse effects on the environment. Few studies have paid attention to the impact of MPM on the marine ecosystem and its functioning. Scarce data dealt with human health (Kokelj et al., 1994), recreational facilities (Becheri, 1991) and fishery resources (Kraus and Supić, 2011) indicating that MPM induce threats to some functions in the marine ecosystems and impair human economic activities along the coastal areas during these events.

We present here a review on MPM and describe the biotic and abiotic factors triggering their formation. We focus on the biological diversity of possible and evidenced producers with special references to pelagic microorganisms and the associated processes. The production of mucilage precursors and environmental factors favoring their accumulation are also described. The ecological role of the MPM on the global ecosystem functioning is discussed.

I. Occurrence of MPM

MPM have been observed in several coastal areas over the world. Local people have given numerous nicknames (Fig 1.) reflecting probably the perception of the phenomenon by the population. The part of the world where MPM are the best documented is the Mediterranean Sea. In some areas such as the North Sea, the Californian coastal waters and the Gulf of Mexico, the aggregates are quite

different than MPM; foams (North Sea) and large macroaggregates (US waters) are rather observed.

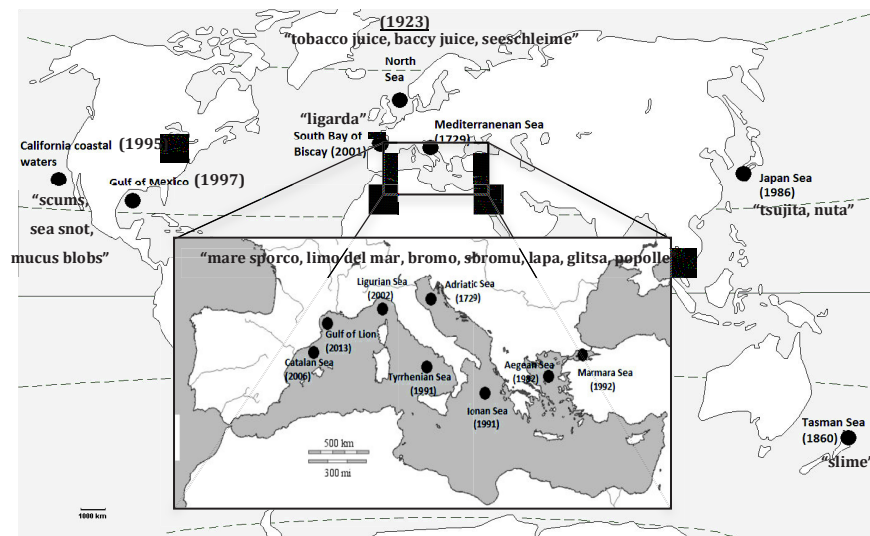


Figure 1: Records of MPM events over the World Ocean (Agencia Catalan del agua, 2013; Alldredge and Crocker, 1995; Auby and Neaud-Masson, 2001; Bianchi, 1746; Calvo et al., 1995; Chang, 1983; Fukao et al., 2010; Gotsis-Skretas, 1995; Green and Dagg, 1997; Hurley, 1982; Innamorati, 1995; Martín and Miquel, 2010; Mishima et al., 1990; Orton, 1923; Rousselet, comm. pers.; Tüfekçi and Balkis, 2010). The data presented in figure2 reflects only the effective MPM presence. The information may be somehow biased because it is not from a survey series. It should be recall that the absence of MPM was not recorded.

In most studies, MPM were essentially observed from spring to autumn (Fig. 2). But its presence has been reported at different periods according to the areas, probably depending on the different environmental factors and biological communities controlling the mucilage formation. Also, some geographical areas are certainly more investigated than other. However, many authors state for such increasing trends in their own studied area. In Adriatic and other Mediterranean Seas, mucilage has been rather observed from May to July with a maximum in July although earliest appearances with longer periods have been reported in recent years (Danovaro et al., 2009). In the Marmara Sea, MPM were observed essentially from September to February (Tüfekçi and Balkis, 2010). In Tasman Sea and South Bay of Biscay, mucilages were essentially reported in spring and autumn although in some years MPM occurred in summer (Suspérregui et al., 2010 and 2012; Mackenzie et al., 2002).

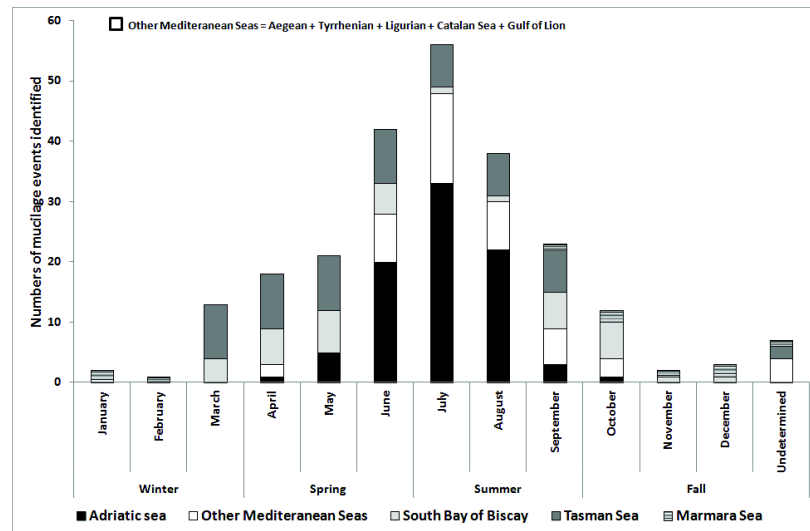


Figure 2: Monthly occurrence of MPM. The data presented reflects only the effective MPM presence (Danovaro et al., 2009; Lincoln MacKenzie et al., 2002; Susperregui et al., 2010 and 2012; Tüfekçi and Balkis, 2010)

II. Biological origin of marine pelagic mucilages

II.1. From *s*-EPS to TEP, marine snow and marine pelagic mucilages

Marine snow was first described in 1952 (Suzuki and Kato, 1953) and originates from a large variety of processes on primary particles such as debris from land, remains of plankton and cellular substances. MPM may result from the accumulation, aggregation and maturation of marine snow (Fogg, 1995; Herndl and Peduzzi, 1988).

Transparent exopolymer particles (TEP) are the main components of the matrix of MPM (Fukao et al., 2009; L. MacKenzie et al., 2002). They are microscopic transparent organic particles measured by staining with Alcian Blue (Engel et al. 2004; Mari 1999; Passow 2000, 2002; Passow and Alldredge 1994), which mainly consist of acidic polysaccharides due to the presence of sulfate half ester groups (Zhou, Mopper & Passow, 1998). TEP have been largely studied from their biological, chemical and physical aspects (Passow, 2002 ; Fukao et al., 2010; Harlay and De Bodt, 2009; Mari and Kiørboe, 1996; Ramaiah et al., 2001; Schuster and Herndl, 1995; Stoderegger and Herndl, 1999; Svetlicic et al., 2011; Wurl et al., 2011). Located between particulate and dissolved material, their specific properties such as flexibility, stickiness, high C content and high C/N ratio (Mari, 1999) contribute significantly to microbial food web structures and flux processes in the aquatic environment modifying sedimentation and biochemical cycling of organic

matter (Passow 2002). TEP and phytoplankton dynamics are linked (Passow, 2002) which may explain their highest concentrations in the euphotic zone of coastal areas (Engel and Passow, 2001; Passow and Alldredge, 1994).

Generally, maximum concentrations of TEP are around 1 000 $\mu\text{g Xeq l}^{-1}$ during blooms but they can reach a maximum of 11 000 $\mu\text{g Xeq.l}^{-1}$ in Adriatic (Passow, 2002). Production of TEP has a direct or indirect biological origin depending on meteorological, biological, physical and chemical controlling conditions (Fig. 3). TEPs are directly formed by the particulate material released by some organisms (Baldi et al. 1997; Passow 2002; Radić et al. 2005) and the coagulation of biologically produced precursor substances, such as colloidal and dissolved carbohydrates (EPS) (Engel et al. 2004; Leppard 1997; Passow 2000; Wetz and Wheeler 2007). Environmental conditions such as turbulence, ion density (Ca^{2+}), concentrations of inorganic colloids and on the types and concentrations of the precursors present control the efficiency of aggregation (Passow, 2000). TEP formation can also be enhanced by adsorption onto particles already present in the water (Kepkay, 1994; Passow and Wassmann, 1994).

Phytoplankton, especially diatoms, is the main producer of TEPs and TEP precursor substances (sEPS), which may explain that peak concentrations of TEPs and diatom blooms are often linked (Mari and Kiørboe 1996; Passow and Alldredge 1995; Passow et al. 2001). However, high concentrations of TEP are not related automatically with all diatom blooms (Kiørboe et al. 1996; Radić et al. 2005) suggesting that the amount of TEP is also species dependent.

The main dissolved precursors of TEP are soluble extracellular polymeric substances (EPS). These high-molecular weight carbon-rich compounds are widely distributed in aquatic environments (Alcoverro et al. 2000; Bhaskar and Bhosle 2005; Liu and Buskey 2000) They are excreted by many aquatic microorganisms such as fishes, corals, macro and microalgae and bacteria (Decho, 1990 ; Prieto et al., 2001). EPS are important components of carbon recycling in aquatic systems. Different biological processes such as the exudation of some microorganisms under specific environmental conditions, the bacterial degradation of the organic matrix, the hydrolysis of macromolecules and the cell lysis by viral infection or cell death can lead to EPS production. When their bacterial degradation is ineffective, their excess of can enrich marine snow and, in extreme situations, form mucous masses

(Fajon et al., 1999). Their abundances and properties depend not only on the composition of the pelagic community, but also on the physiological status of the individual organisms, which is a complex function of their growth conditions. The effects of environmental parameters on TEP production such as nutrients (Corzo et al., 2000; Surosz et al., 2006), irradiance (Wolfstein and Stal, 2002a), temperature (Claquin et al., 2008), or salinity (Liu and Buskey, 2000) have been demonstrated.

II.2. Taxonomic groups involved in MPM production

MPM trap high abundances of a wide range of organisms from picoplankton to zooplankton (Del Negro et al., 2005; V. Flander-Putrlle and Malej, 2008) as well as organic and inorganic debris. It seems difficult to establish whether these species are directly involved in the production of MPM, however they are recurrent in impacted area.

However phytoplankton's role seems to be in relation with the initial formation of the MPM but also in its evolution and maturation (Gärdes et al., 2010). Phytoplankton communities associated with MPM vary in terms of dominant species, depending on the period and the sampling area (Cabrini et al., 1992a; Revelante and Gilmartin, 1992; Totti et al., 2005). Almost all phytoplankton species observed in MPM are typical blooming species (Bianchi et al., 2002; Buitenhuis et al., 2008, 2001; Horner, 2002; Roden, 1984; Sasamal et al., 2005; Schlüter et al., 2012; Schoemann et al., 2005). They have typical pelagic and neritic distribution but are cosmopolite over the oceans (Hasle and Tomas, 2007; Kraberg et al., 2010) and they have been observed in impacted and no affected areas by MPM events (Godrijan et al., 2013; Hoppenrath, 2004) and near estuaries (*e.g.* Videau et al., 1998). Indeed, high concentrations of TEP have been associated to blooms dominated by phytoplankton taxa including diatoms, dinoflagellates (Passow and Alldredge, 1994; Alldredge et al., 1998; Berman and Viner-Mozzini, 2001), cyanobacteria (Grossart et al., 1997; Grossart and Simon, 1998), prymnesiophytes (Innamorati, 1995; Lancelot, 1995; Riebesell, 1991) and cryptomonads (Kozłowski and Vernet, 1995; Passow, et al. 1995). In this section, we summarize biological diversity observed within MPM as well as species related to EPS and TEP exudation mechanisms or involved in MPM formation and persistence.

II.2.1. Diatoms

II.2.1.1. Ecological role of EPS exudation by diatoms

Aggregates containing abundant diatoms have higher TEP concentrations than aggregates enriched with bacteria, larvacean houses, fecal matter and other unidentifiable debris (Alldredge et al., 1998). Diatoms are able to secrete copious quantities of polysaccharides during all phases of their growth (Allan et al., 1972; Sundh, 1989; Watt, 1969 ; Hellebust, 1974; Hama and Handa, 1983; Williams, 1990), in order to aggregate themselves spontaneously, when they are in high number (Juul-Pedersen et al., 2010; Kiørboe and Hansen, 1993; Rousseau et al., 1994; Strmecki et al., 2010; Tiselius et al., 1998), to secrete chemicals inhibiting copepod reproduction protecting them of grazing (Miralto et al., 1999) or to survive in resting spores forms (Cupp, 1943). EPS exudation is also a defense mechanism for diatoms against grazing, and bacterial and virus attacks (Azam et al., 1999; Keller and Hood, 2013) and some diatoms can exudate EPS only in presence of bacteria.

II.2.1.2. Diversity associated to MPM

Although, MPM appear in areas that contain low or intermediate diatom abundances (Not et al., 2012), diatoms can constitute up to 99,1% of the microphytoplankton integrated into MPM (Najdek et al., 2005). They are more able to grow than dinoflagellates in aggregates (Pompei et al., 2003; Tinti et al., 2007). Diatom composition varies with MPM age and size (Najdek et al., 2002).

Ceratoneis closterium is often associated with the formation of aggregates (Alcoverro et al., 2000; Alldredge, 1999; Monti et al., 1995) that lead to MPM events during the summer in the northern Adriatic Sea (Regione Emilia Romagna 292 - ARPA, 2002). It is also the diatom dominant specie of large old MPM from the Mediterranean sea (Najdek et al., 2002) . The others dominant genus associated with MPM in the literature are: *Nitzschia* (Alldredge and Gotschalk, 1989; Degobbis et al., 1995; Innamorati, 1995), *Chaetoceros* (Alldredge et al., 1993; Kranck and Milligan, 1988; Tiselius et al., 1998), *Rhizosolenia* (Passow et al., 1994; Penna et al., 1993; Stachowitsch et al., 1990), *Leptocylindricus* (Kiørboe et

al., 1994; Provini et al., 1992; Stachowitsch et al., 1990), *Skeletonema* and *Thalassionema* (Penna et al., 1993; Provini et al., 1992; Riebesell, 1991).

II.2.1.3. TEP producers and growth conditions for EPS exudation

Diatom aggregates can be very rich in TEP (Grossart and Simon, 1998; Passow et al., 1994; Passow and Alldredge, 1994) but not all diatom blooms produce high TEP concentrations (Kjørboe et al., 1996; Radić et al., 2005). Several diatom species (e.g. *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., *Ceratoneis closterium*), are known to produce large amounts of extracellular polysaccharides (V. Flander-Putrlle and Malej, 2008). In the Adriatic, high abundance of *Ceratoneis closterium*, *Chaetoceros* and *Nitzschia* are positively correlated with high TEP concentrations (Alldredge, 1999).

The amount and the quality of s-EPS production by marine phytoplankton varies by species and its growth stage but also by environmental conditions (Alldredge, 1999; Chen and Wangersky, 1996; Mykkestad, 1977, 1974, 1995; Mykkestad and Haug, 1972; Penna et al., 1999). Photosynthesis and EPS production are correlated (Claquin et al., 2008; Smith and Underwood, 2001). Photosynthesis efficiency is dependent on irradiance, temperature, nutrient conditions and growth stage of the species. That's the reason why many works have focused on the characterization of released EPS (Staats et al., 1999) and the identification of factors controlling their production such as nutrient imbalances (Alcoverro et al., 2000; Staats et al., 2000), irradiance and temperature (Wolfstein and Stal, 2002b), growth stage (Alcoverro et al., 2000; Smith and Underwood, 2001; Staats et al., 1999) and bacterial activity (Grossart, 1999; Wolfstein and Stal, 2002b).

P depletion and high N / P ratio in the Adriatic Sea are frequently cited to induce an accumulation of mucus (Degobbis et al., 1998; Herndl et al., 1992; Mykkestad, 1999; Obernosterer and Herndl, 1995).

In vitro experiments have shown that for *C. closterium* (Staats et al., 2000), *Navicula pelliculosa* (Lewin, 1955), *Chaetoceros affinis* (Mykkestad, 1977), *Achnantes brevipes* (Guerini et al., 2000), *Thalassiosira pseudonana* (Urbani et al., 2005), P limitation increases the extracellular release of polysaccharides (Alcoverro et al., 2000; 1974, 1995; Penna et al., 1999; Staats et al., 2000). Although *C. closterium* and *Chaetoceros affinis* (Obernosterer and Herndl, 1995) are able to

secrete EPS under N limitation, EPS production is higher under P-limitation possibly because of a higher photosynthetic rate under P-limited conditions (Alcoverro et al., 2000). In contrast, EPS release can be enhanced by N limitation for *Skeletonema costatum* (Granum et al., 2002) but the release rates are very low.

Concerning the growth stage, rate of release is higher during exponential growth for *Skeletonema costatum*, (Granum et al., 2002) and *Chaetoceros affinis* (Myklestad et al. 1989). In contrast, it is higher in stationary phase for *Ceratoneis closterium* and *Thalassiosira pseudonana* (Urbani et al., 2005). Concerning the temperature, Claquin et al. (2008) indicate that maximum TEP production in diatoms *Pseudonitzschia fraudulenta*, *Skeletonema marinoi*, *Thalassiosira pseudonana*, and the prymnesiophyte *Isochrysis galbana* coincided with the optimal temperature for growth and photosynthesis. In contrast, the results of Fukao et al. (2012) show that *Coscinodiscus granii* isolated from Ariake Sound mucilage prefers high temperature for growth rates and cell yield while the maximum TEP production was observed at low temperature. These results are in agreement with those obtained by (Wolfstein and Stal, 2002b) for *Ceratoneis closterium*. Because the cells at low temperature cannot grow as fast as those at higher temperatures, the carbon assimilated via photosynthesis would be transferred to the production and release of EPS (Fukao et al., 2012).

Irradiance and the amount of EPS are correlated (Wolfstein et al., 2002). Various stimuli such as, low light levels, darkness, and migration linked to an impending tidal immersion, increase the production of EPS of epipelagic diatoms (Smith and Underwood, 2001). This means that in the field, a seasonal influence on the production of exopolymers may be expected, e.g. high irradiances in spring or summer cause higher production rates. Moreover, epipelagic diatoms can utilize glycan reserves and increase EPS production during darkness conditions (Smith and Underwood, 2001). A diatom species list secreting EPS is presented in Appendix 1.

II.2.2. Dinoflagellates

II.2.2.1. Ecological role of EPS exudation

The main functions of EPS for dinoflagellates are defense against predators, increasing buoyancy, improvement of nutrient uptake and metabolic self-regulation

balancing cell stoichiometry (Reynolds, 2007; Vanucci et al., 2010) and attachment to the substrate (Besada et al., 1982). In some case, EPS and toxin exudation are positively correlated (Vanucci et al., 2010) which can inhibit photosynthetic competitors or repel predators. It can also be a survival function when environmental conditions (temperature, hypersalinity or nutrients) become unfavorable. In this case, dinoflagellates are able to transform into temporary cysts (Dale, 1977) which may generate a great production of mucus (Walker, 1984). Finally, polysaccharidic exudates may improve the micro-predation (Barone, 2007; Giussani et al., 2015) forming mucous trap (Blossom et al., 2012).

II.2.2.2. Diversity associated to MPM

Dinoflagellates may constitute up to 95% of phytoplankton taxa identified in MPM (Alldredge et al., 1998) and TEP rich flocks can occur during dinoflagellates blooms (Alldredge et al., 1998). Table 2 shows dinoflagellates composition of 8 mucilage events in 4 different seas between 1981 and 2008. Except for the California coast, areas of MPM formations are not part of the major biogeographical zones of abundant dinoflagellates (Taylor et al., 2008). Dinoflagellates are mobile and can therefore regulate their position along the water column to stay in touch with their preys. It has been hypothesized that diatoms and bacterial presence in MPM facilitates dinoflagellates aggregation because some species are dinoflagellates preys (Du Yoo et al., 2009; Taylor et al., 2008). Thus MPM occurrence creates an imbalance in the dinoflagellate populations in surrounding water, leading to mass multiplication in aggregates (Alldredge et al., 1998). *Gonyaulax* spp. are found in almost all MPM. In the Mediterranean Sea, studies on MPM have allowed highlighting *Gonyaulax fragilis*, which was not observed in this area before. *G. fragilis* takes an active part in the process of MPM formation in the Northern Adriatic Sea (Rossella Pistocchi et al., 2005; Pompei et al., 2003), in the Marmara sea (Balkis et al., 2010) and in the Greek coastal waters (Nikolaidis et al., 2006). It appears at the beginning of the formation of MPM and disappears when the MPM disappear. In the Tyrrhenian Sea, *G. polyedra* is the dominant dinoflagellate of MPM (Rinaldi et al., 1995). In Adriatic, *Ceratium furca*, *Oxytoxum* spp. and *Gonyaulax fragilis* are considered as characteristics dinoflagellates of mucilage event (Totti et al., 2005). On California's coast MPM,

main dinoflagellates species are *G. polyedra*, *G. polygramma*, *G. grindleyi* and *G. koeffoidi* (Alldredge et al., 1998). In this region, these four species can represent up to 90% of the marine mucilage dinoflagellates composition. Finally, the major species observed in the Tasman Sea's marine mucilage are *G. hyalina* and *G. turbynei* (Chang, 1983; L. MacKenzie et al., 2002). Several *Gymnodinium* species were also abundant in the mucilage events in Tasman Bay which occurred in October 1981 and January 2000 (L. MacKenzie et al., 2002).

II.2.2.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation

Few studies have tested the conditions of EPS production by dinoflagellates. Growth stage is an important factor to take into account. Some genus as *Ostreopsis sp.*, *Gambierdiscus toxicus*, *Prorocentrum sp.* and *Gonyaulax sp.* are able to release large amounts of EPS (Besada et al., 1982; Heil et al., 1993). Pompei et al. (2003) estimate that the amount of EPS secreted by some thousands of *Gonyaulax fragilis* is equivalent to that secreted by 10 millions of the diatom *Ceratoneis closterium*. Indeed, for *Aureoumbra lagunensis*, EPS concentrations are three times higher in stationary and declining phase than in growth phase (Liu and Buskey, 2000). Environmental conditions such as temperature, salinity or nutrients can control dinoflagellates EPS exudation. For *Prorocentrum lima*, the influence of nutrient conditions has been shown with an increase of EPS and toxin under P limitation when no change is observed in N limitation (Vanucci et al., 2010). Increasing salinity slows the growth of *A. lagunensis* but stimulates secretion of EPS (Liu and Buskey, 2000). According to Tüfekçi et al. (2010) *Gonyaulax hyalina* and *G. fragilis* are identified as producers of EPS in different sea as Tasman and Golden Bay in New Zealand (L. MacKenzie et al., 2002) and more recently in the northern Aegean sea (Nikolaidis et al., 2006). *Prorocentrum micans* is another producer of mucus (Pompei et al., 2003). On MPM on Californian coast, formation of temporary dinoflagellate cysts generated high amount of EPS (Walker, 1984). A dinoflagellates species list secreting EPS is presented in Appendix 2.

II.2.3. Prymnesiophytes

Prymnesiophytes are involved in particular mucilage forming foams essentially in the North Sea. However they were observed in large quantities in MPM from New Zealand and from the Northern Adriatic Sea (Chang, 1983; Vesna Flander-Putrlle and Malej, 2008).

II.2.3.1. Ecological role of EPS exudation

Prymnesiophytes, can change their life style from single to colonial form (Peperzak and Gäbler-Schwarz, 2012) which is coated by large amount of mucilaginous matter (Alderkamp et al., 2006). This ability to form mucous colonies allows the appearance of bloom at the expense of others species. Changes from free-living cells to gelatinous colonial form is a conservative strategy to escape grazing (Tang, 2003) and may protect from pathogen infection (Jacobsen et al., 1996). In addition, their matrix insure an adaptive role when growth conditions (light, nutrients essentially PO₄) fluctuate acting as a nutrient reserve (Schoemann et al., 2001; Veldhuis et al., 1991).

II.2.3.2. Diversity associated to MPM

Average prymnesiophyte concentration in oceans and seas are high in MPM impacted areas (Not et al., 2012). According to the high contribution of prymnesiophytes to the total biomass in the period before MPM formation, Flander-Putrlle and Malej (2008) concluded that prymnesiophytes have an important role in initial stages of MPM formation. Prymnesiophyte are usually not dominant in MPM, excepted in North Sea where *Phaeocystis pouchetii* and *P. globosa* are observed as MPM dominant species (Lancelot, 1995). High abundance of *Emiliana huxleyi* and *Phaeocystis pouchetii* is also pointed in the Tasman Bay MPM (Chang, 1983). In Appendix 3 is presented a list of prymnesiophytes observed in MPM.

II.2.3.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation

Phaeocystis spp. blooms may secrete high amounts of polysaccharides (Eberlein et al., 1985; Passow and Wassmann, 1994; Verity et al., 1988). *Phaeocystis* is capable to secrete two kinds of TEP: one, derivate from freshly secreted EPS and easily

biodegradable during the growth phase and another resistant to microbial degradation through colony disruption (Hong et al., 1997; Mari et al., 2005; Passow, 2000; Passow and Wassmann, 1994; Thingstad and Billen, 1994). The senescent colonies are then progressively colonized by autotrophic and heterotrophic organisms and are covered by organic debris, forming larger aggregates with higher density (Rousseau et al., 1994). Nutrient depletion triggers the collapse of population (Lancelot, 1995; Verity et al., 1988) and P limited conditions lead to higher production of TEP than in N limited conditions for *Phaeocystis globosa* (Mari et al., 2005). A prymnesiophytes species list secreting EPS is presented in Appendix 2.

II.2.4. Cyanobacteria

Cyanobacteria's role in MPM formation is not well known and it is difficult to correlate MPM and cyanobacterial blooms (Vanucci, 2003). They are mostly documented in benthic mucilages (De Philippis et al., 2002 and 2005). Even so, they are also observed in MPM in respect to heterotrophic bacteria and eukaryotic autotrophs (Fuks et al., 2005; Metaxatos et al., 2003).

II.2.4.1. Ecological role of EPS exudation

Cyanobacterial polysaccharides exudation provides various specific roles depending essentially on the strain and the environmental conditions (De Philippis and Vincenzini, 1998). The main function is to provide a protective role of the cell to external aggressions as stress resistance (desiccation, salinity), predation or antibacterial agents (Costerton et al., 1981; Whitfield, 1988). Other studies suggest that polysaccharides exudation allows the creation of biofilms on solid substrates such as rocks (Costerton et al., 1981; Whitfield, 1988), improve light utilization and nutrient uptake (Martin and Wyatt, 1974), protects the oxidation of nitrogenase (Prosperi, 1994) and promotes the nitrogen fixation acting as a chelator of iron and calcium (Lange, 1976).

II.2.4.2. Diversity associated to MPM

Although many articles describe the abundance of cyanobacteria in MPM, few specifically identify species. In the Aegean Sea, Metaxatos et al. (2003) identified *Microcystis aeruginosa*, *Lingbya agardhii*, *Chroococcus gelatinosus*, *Synechocystis sallensis* and *Trichodesmium erythraeum*. Most of cyanobacteria present in MPM appertain the LPP-group (e.g. *Lyngbya* sp.) whose species are known to form trichomes which are a kind of marine aggregates mostly observed in North Sea (Brehm et al., 2003). By chemotactism sensing, trichomes formations allow cyanobacteria to maximize their position in microhabitats depending on the light, the concentration of organic matter and growth niches. Trichomes are sticky and organized in spheres structures with diatoms inside and cyanobacteria outside. In the benthic mucilages of the Tyrrhenian Sea, the genera *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Rivularia*, *Oscillatoria* were regularly found while *Symploca*, *Aphanocapsa*, *Synechocystis* and *Gloeocapsa* were present at lower frequency (De Philippis, 2005). It has been hypothesized that free-living *Synechococcus* cyanobacteria, when present in high concentration in surrounding waters, become easily entrapped into the mucilage matrix (Vanucci, 2004).

II.2.4.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation

TEP rich flocs may occur during cyanobacteria bloom (Grossart and Simon, 1998) and decaying filamentous cyanobacteria (Grossart et al., 1998). A cyanobacteria bloom generally appears under conditions of summer thermal stratification and reduced turbulence but they can be observed both during mucilage events (Kaltenböck and Herndl, 1992; Fuks, 1995) and in years without mucilage (Vanucci et al., 1994). Once cyanobacteria start colonizing the mucilage they display enhanced growth rates and this contribute to DOC excretion (Stachowitch et al., 1990; Kaltenböck and Herndl, 1992; Baldi et al., 1997; Flander et al., 1998). Thereby Cyanobacteria play a significant role in the secondary enlargement of MPM (Totti et al., 2005).

More than environmental conditions, EPS production depends essentially on strains. Growth stage, growth-controlling parameters as light intensity, salinity, pH, type and amount of nutrient are the main factors tested in vitro and the response is strain dependent. For example, for *Cyanothece* sp. (Shah et al., 1999), *Nostoc* sp.

and *Oscillatoria sp.* (Parikh and Madamwar, 2006), EPS production is positively correlated with the growth although for *Nostoc calcicola* (Flaibani et al., 1989), *Phormidium* (Fattom and Shilo, 1985, 1984a) *Anabaena flosaquae* (Moore and Tischer, 1964; Tischer and Davis, 1971) and *Anabaena cylindrica* (Lama et al., 1996), EPS exudation increase with the late exponential growth or the stationary phase.

Nitrogen limitation experiments lead to increased production of EPS for *Anacystis nidulans* (Sangar and Dugan, 1972) and several *Cyanothece* (De Philippis et al., 1998; De Philippis and Vincenzini, 1998) while they have no effect in strains like *Synechocystis* (Panoff et al., 1988), some *Cyanothece* (De Philippis et al., 1998), *Cyanospira capsulata* (De Philippis et al., 1996) and *Phormidium* (Fattom and Shilo, 1984b). For other strains as *A. cylindrica* (Lama et al., 1996) and *A. flosaquae* (Tischer and Davis, 1971), EPS production depend more on the nitrogen source than the concentrations.

Few studies have tested the influence of light on EPS production. However, *C. capsulata* and *Synechococcus* BG0011 strains cultivated with day night alternations produce significantly less EPS than control strains grown in continuous light (Philippis et al., 1995; Philips et al., 1989) while *Synechocystis* strains EPS production remains constant whatever the light intensity (Panoff et al., 1988). For *Cyanothece sp.*, Shah et al. (1999) demonstrated EPS production increase with salinity and is higher at a neutral pH (7). Programmed cell death of *Trichodesmium* in culture due to nutrient and/or oxidative stress increase TEP production (Berman-Frank et al., 2007). A cyanobacteria species list secreting EPS is presented in Appendix 4.

II.2.5. Heterotrophic bacteria

As for phytoplankton, the amount of heterotrophic bacteria and their density in MPM are positively correlated (Balkis et al., 2010). MPM aggregates and MPM porewater from the Northern Adriatic Sea are enriched in bacteria compared to the surroundings, and mature marine mucilage contains more bacteria than the juvenile marine mucilage (Bongiorni et al., 2007; Del Negro et al., 2005). Several studies highlighted that bacteria participate in the MPM formation (Azam and Long, 2001; Herndl et al., 1999). Bacterial aggregation on MPM seems to be governed by an

adaptive process of bacteria to use benefits of this environment enriched in organic matter (Del Negro et al., 2005). MPM from the Northern Adriatic Sea was observed by electron microscopy and this observation highlighted a well-organized structure like honeycomb (Turk et al., 2010). This kind of structure can be a favorable ecological niche for bacterial growth. Bacteria are able to colonize MPM and can grow aggregated to TEP or in planktonic form in MPM porewater (Azam and Malfatti, 2007; Del Negro et al., 2005; Goldman, 1984). MPM are microhabitats enriched in dissolved nutrients and organic matter promoting the development of heterotrophic bacteria (Alldredge and Silver, 1988). Bacteria consume preferentially simple polysaccharides, which are strongly present in MPM (Haug and Mykkestad, 1976; Urbani et al., 2005; Van Rijssel et al., 2000). Chemotactism towards EPS exudated from the phytoplankton (Sonnenschein et al., 2012; Tang et al., 2006) and quorum sensing (Gram et al., 2002) are known to act in bacterial aggregation. Moreover, bacteria are able to stick and live on TEP (Passow, 2002) and the number of attached bacteria to TEP is proportional to TEP size (Mari and Kiørboe, 1996). The amount of dying diatoms in MPM let cell content available to bacteria, which is more easily metabolizable than the organic particulate material secreted. Dead algae, which is also a source of food for heterotrophic bacteria, are rapidly colonized (Azam et al., 1999).

II.2.5.1. Ecological role of EPS exudation (and role of bacteria in MPM)

Bacterial EPS exist as a part of DOM (Lignell, 1990) as well as organic matter composing particulate matter such as marine snow, microbial mats or biofilms (Decho, 2000, 1990; Passow et al., 1994). These exopolymers have multiple roles. Bacteria can also secrete EPS to protect against predators and virus attacks. Moreover, bacterial EPS enhance aggregation (Azam, 1998). EPS facilitate bacterial motility and irreversible attachment of microorganisms to a substrate, help trapping nutrients (organic and inorganic), is necessary for cell-growth and may protect from biochemical, chemical or biological attacks.

II.2.5.2. Diversity associated to MPM

Bacterial community establishment and inter-species interactions are important for the quality of marine aggregate formation (Grossart et al., 2003). In the Northern Adriatic Sea, MPM contains a large bacterial diversity, with an enrichment of coliforms and pathogenic bacteria (Danovaro et al., 2009; Karen Shapiro et al., 2012). Those taxa are detected only within the MPM and not in the surroundings (Danovaro et al., 2009). Similarly, 90% of OTUs detected in the Northern Adriatic Sea mucilages are different from those found in the surrounding seawater. Thus aggregated and planctonic heterotrophic bacterial communities are significantly different in MPM than in the surrounding waters (Danovaro et al., 2009; Del Negro et al., 2005).

Dominant bacteria in freshly-formed marine mucilage aggregates are γ -*Proteobacteria*, especially the family of *Alteromonadaceae* in the Northern Adriatic Sea (Blažina et al., 2010). Genera related to this family are known for their adaptation capacities to the marine environment. They are able to adapt their enzymatic production and optimize the energy resources, leading thus to rapid growth. Serratore et al. (1995) showed that the presence of marine bacteria was related to the MPM presence. *Vibrio* sp., *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas vesicularis* and *Moraxella* sp. were identified in MPM from Northern Adriatic Sea. Bacteria associated with marine macroaggregates from the US Pacific Coast are mostly related to *Planctomyces* or *Flavobacteria* groups whereas planctonic bacteria living near the marine aggregates are different (DeLong et al., 1993).

II.2.5.3. Growth conditions for EPS exudation

There is no correlation between bacterial abundance and TEP concentrations in natural aggregated systems (Passow & Aldredge, 1995; Passow et al., 2001). Bacteria are capable of producing TEPs or their precursors (Stoderegger & Herndl, 1999; Passow, 2002a; Radic et al., 2003), but at the same time, they can degrade and/or transform them (Radic et al., 2006). Even if bacteria are able to generate large amounts of TEP in batch culture (Stoderegger & Herndl, 1998; Grossart, 1990), their in situ production is negligible compare to diatoms and dinoflagellates (Schuster & Herndl, 1995). The chemistry of EPS derived from bacterial and diatom cells are very different and may explain the differences in MPM formation

(Bashkar et al., 2005). The higher concentrations of uronic acids in bacterial EPS impart an overall negative charge to the EPS, thereby enhancing their binding properties. Moreover, some bacteria are known to secrete extracellular biopolymeric flocculants (EBFs) which may be involved in MPM aggregation (Salehizadeh and Shojaosadati, 2001). A bacteria species list secreting EPS is presented in Appendix 3.

II.2.6. Zooplankton

II.2.6.1. Ecological role of EPS production

The functions performed by the zooplankton mucus secretion are mainly related to food filtration mucous (Alldredge, 1972; Gilmer, 1972; Hamner et al., 1975; Madin, 1974), physical protection and floatability (Hamner et al., 1975) and photoprotection (Steinberg et al., 2004). MPM and microorganisms entrapped are consumed by zooplankton (Baylor and Sutcliffe, 1963; Riley et al., 1964; Silver et al., 1978). Grazing is a carbon source to be considered alongside the phytoplankton extracellular secretion or the cell lysis (Nagata, 2000). Phytoplankton grazing by zooplankton play an important role on mucilage formation (Graneli et al., 1999; Malej et al., 1995; Revelante and Gilmartin, 1992) because the activity of grazers and predators is a source of DOC which favor bacterial aggregation (Borsheim, 2005). Disruption of cells before ingestion, and egestion of unassimilated material will be sources of DOC. Assimilation efficiency of herbivores is typically 60–80% (Sterner and Hessen, 1994), which indicates that 20–40% of ingested carbon is egested, directly as DOC or converted through hydrolysis.

II.2.6.2. Diversity associated to MPM

Even if MPM concentrate zooplankton preys, few studies deal with zooplankton composition in MPM. We must distinguish between the species that are entrapped into the matrix to those that revolve around MPM. Into MPM, copepod nauplii are often dominant (Green and Dagg, 1997; Bohdansky and Herndl, 1992; Milani and Fonda Umani, 1992). Other larval or juvenile stages such as invertebrate eggs, polychaete larvae (*Spionidae*, *Nephtyidae* and *Nereidae*), juvenile *Acoele turbellarians* or *Oncaea copepodits* are also present in MPM (Bohdansky and

Herndl, 1992; Green and Dagg, 1997; Milani and Fonda Umani, 1992; Shanks and Del Carmen, 1997). Copepods such as *Oncaea spp.*, *Oithona plumifera*, *Microsetella norvegica*, *Acartia clausi*, *Penilia avirostris* *Temora stylifera* are also often met into MPM matrix (Bochdansky and Herndl, 1992; Green and Dagg, 1997; Okyar et al., 2015; Susperrégui et al., 2010). Micro-metazoans can also be abundant in MPM with a dominant and regular presence of ciliates such as *Strombidium compressum*, *S. conicum* and *S. cornutum* and a scarce presence of tintinnids such as *Helicostomella subulata* and *Tintinnopsis compressa* (Milani and Fonda Umani, 1992). Among the population who gravitate MPM in order to feed, species such as siphonophores, doliolids and fish larvae are found (Green and Dagg, 1997). In surrounding water, zooplankton community differs depending on the presence or absence of MPM with a decrease in total microzooplankton abundance in their presence, especially some copepods such as *Paracalanus parvus*, *Temora longicornis* and *Centropages typicus*, cladocera and tintinnids (Cataletto et al., 1995; Fonda Umani, 1996; Kršinić, 1995; Milani and Fonda Umani, 1992; Yilmaz, 2014;). On the contrary, abundances of copepods *Oithona nana* increase during MPM events probably due to their broader range of food.

Finally, MPM impact micro and mesozooplankton community structure by reducing their feeding efficiency, altering copepod stock scavenging naupliar copepods (Kršinić, 1995) or more generally by modifying the entire food chain (Cabrini et al., 1992b; Cataletto et al., 1996; Milani and Fonda Umani, 1992) which reduces zooplankton diversity (Najdek, 1997)(Milani and Fonda Umani, 1992).

II.2.6.3. TEP production and growth conditions for EPS exudation

Even if zooplankton consumes organisms entrapped in MPM, it also contributes to the release and accumulation of organic matter (Karl et al. 1988, Taylor, 1989; Carlson, 2002; Steinberg et al., 2000) via sloppy feeding releasing uningested particles, excretion, leaching of fecal pellets or the development of mucous feeding structure (Fig. 3).

Many gelatinous zooplankton such as appendicularians and salps (Alldredge, 1972; Madin, 1974), pteropods such as *Cymbulli* (Gilmer, 1972) prosobranch veliger larvae and polychaete larvae such as *Poecilochaetus sp.* (Hamner et al., 1975) filter particles through external mucous nets which, when they are clogged or damaged,

are abandoned in the surrounding water. Then, the organism produce new mucous structure and this process may occur many times a day leading to the formation of aggregates. Alldredge (1972) found that most of Gulf of California aggregates were caused by discarded appendicularian houses of *Oikopleura sp.*, *Megalocerus huxleyi* and *Stegosoma magnum*. In addition, in condition of local blooms or absence of competitors (Silver, 1971), salps may develop huge colonies over large areas (Berner et al., 1967). Another way to produce DOM, which is a TEP precursor, is mainly copepods sloppy feeding (Møller, 2007; Saba et al., 2011) which may depend on morphological parameters such as shape and size of the prey (Møller, 2005). Fecal pellets and excretion are other processes developed by copepods to release metabolic products (Hasegawa et al., 2001; Møller et al., 2003; Steinberg et al., 2004) insuring homeostasis by the remove of excess elements depending on the type and the quantity of food ingested (Anderson et al., 2005; Jumars et al., 1989). Some crustacean and gelatinous zooplankton such as copepods, euphausiids, ctenophores (*Mnemiopsis leidyi*), scyphomedusae (*Chrysaora quinquecirrha*) and medusae (*Aurelia sp.*) are well known to excrete DOM (Condon et al., 2010).

II.3. Global influence of MPM on marine communities structure

MPM outbreaks can be linked to long term modifications in environmental conditions and changes in community structure (Degobbi et al., 1995). In return, MPM formation cause changes in the trophic structure of microbial assemblages in the seawater. Time series analyzes show changes in plankton communities in areas impacted by MPM as the Northern Adriatic Sea (Cabrini et al., 2012; Conversi et al., 2009; Conversi et al., 2010; Kamburska and Fonda-Umani, 2009 ; Monti et al., 2012), but none was clearly determined to be involved directly in MPM formation. Nutrient inputs control the balance between heterotrophs and autotrophs biomasses (Duarte et al., 2012). Abrupt change in trophic conditions may induce a sudden change in size classes and community structure that must adapt by borrowing new trophic pathways and optimizing the use of remaining nutrients (Legendre and Rassoulzadegan, 1995; Mousseau et al., 1996; Totti et al., 2005). Abundances of autotrophs depend on the stage of MPM with a higher increase of all size classes of phytoplankton (Pico-nano-micro) abundances in mature MPM than in younger

stages (Totti et al., 2005) while cyanobacterial blooms are independent of MPM presence (Kaltenbock and Herndl, 1992; Vanucci et al., 1994).

However, in the presence of MPM, increased biomass of picophytoplankton can be partly explained by the fact that cyanobacteria, by feeding the matrix, significantly increase their growth and exudation rates, which consolidate the process of aggregation (Kaltenbock and Herndl, 1992). Concerning the nanophytoplankton, the high nutrient availability before MPM appearance and their ability to become mixotrophic when trophic conditions change may explain their increasing abundances in MPM presence (Danovaro et al., 2009; Lovejoy et al., 2000). Although micro phytoplankton community increases in the presence of MPM, diversity is nearly similar both in presence or absence of MPM and in MPM or in the surrounding water. Only a few species benefiting from the presence of MPM as *Ceratoneis closterium* and *Pseudonitzschia delicatissima* increase significantly their abundances (Totti et al., 2005).

In parallel, during MPM event, increasing abundance in small sized heterotrophic flagellates (2-5 μm) and above all in heterotrophic picoeukaryotes abundances create a significant imbalance between heterotrophic/mixotrophic and phototrophic organisms (Vanucci, 2003) which is typical of unproductive regions and reveal an inverted trophic pyramid (Gasol et al., 1997). These increases can be attributed to their diet in bacterioplankton which is very abundant in MPM and reacts very quickly to environmental changes. Contrarily, nanoflagellates (5-20 μm) and mesozooplankton does not benefit from the presence of MPM may be due to their greater reliance on autotrophic organisms (Fonda Umani et al., 2005; Vanucci, 2003).

II.4 MPM and the carbon cycle

There are 2500 Gt of organic carbon in oceans (Zimov et al., 2006). In equilibrate systems, organic matter produced by the phytoplankton is mainly consumed by the microbial loop, before sinking to the benthos. The carbon cycle involves the biology via photosynthesis, respiration, and metabolism. Trophic gradients can change relationship between primary production and utilization of organic matter available with important implications for food web dynamics, carbon and nutrients cycles (Biddanda et al., 2001). MPM phenomenon in the marine environment may

have a significant impact on carbon cycle because it constitutes a significant pool of organic carbon for the food web (Leppard, 1995).

II.4.1. Biological pump

Phytoplankton represents approximately 40% of the annual planetary photosynthetic production and it is the mediator of the passage of unusable inorganic carbon to organic carbon which is a basic component of the heterotrophic organisms (Jang et al., 2006). The ocean is the largest of rapidly exchanging global carbon reservoir, with exchange between atmospheric and dissolved CO₂ and the biologic pump role is to produce DOM and POM to export it in deeper layers (Siegenthaler and Sarmiento, 1993). By this way it will put several years to several centuries to pull up to the surface and therefore do not directly return in the atmosphere unlike the rest of the CO₂ of surface waters (Rozanski et al., 1993). Phytoplankton is known to play key role in this biological pump and participate to ocean desacidification (Bates et al., 1996) . MPM formation may be one additional pathway to bury the excess of particulate organic carbon from the surface to the deep layers when mucilage sinks. One of the fate of algal blooms is sedimentation (Goldman, 1988; Legendre, 1990) and so most of episodic blooms sink in deep sea. Sinking speed increases if TEP are produced during the bloom (Riley et al., 2012) and in this way more carbon material is brought to the depth. MPM are enriched in algae and occurs after a diatom bloom (Svetličić et al., 2005). So we can guess that this phenomenon will have the same fate. Moreover, sedimentation is more consequent when grazing is insufficient (Legendre, 1990). Carbon sedimentation plays a key role in the carbon cycle because deeper carbon sinks, more time it will need time to return to the surface. However MPM tend to appear in shallow seawater and so the carbon resuspension is probably accelerated, making carbon concentrations in area impacted higher. Thus, the exact role in marine aggregate in carbon flux is not understood yet (Passow and Carlson, 2012).

Most of benthic carbon inputs are from POC produced in the pelagic area. Marine snow phenomenon is known to increase carbon input to the benthos. Algae and protozoa are among organisms the most implicated in sinking carbon flux. Conversely, grazers have motility systems making them able to don't sink to the benthos. Curiously, diatoms' sinking is correlated with primary production but not

marine snow-like particles. Those particles contribute significantly to carbon flux inputs to the depth (Silver and Gowing, 1991). However, after a diatom bloom, not all carbon and nitrogen sink. A large part stays in the pelagic zone mainly into dissolved forms that supply the pelagic microbial loop (Buesseler et al., 1992). Carbon sinking would depend on MPM composition depending on its algal composition. Some algae result in significant aggregation, like *Skeletonema costatum*, *Coscinodiscus* spp., *Chaetoceros* spp., *Nitzschia* spp., or *Phaeocystis* spp., which are less grazed and rather sedimented (Legendre, 1990; Riebesell et al., 1995; Wassmann, 1994). Carbon is then incorporated in the sediment by bioturbation. Benthic microbial activity is enhanced by carbon input from the sinking carbon flux. This process is the first step to feed all the benthic trophic chain from the microbial loop to the macrofauna (Graf et al., 1982).

II.4.2. Carbon utilization in the pelagic zone

Marine bacteria account for 70% of living carbon in the photic zone and 40% of carbon alive at the seawater surface. It is the biggest oceanic heterotrophic group (Wilhelm and Suttle, 1999) and bacteria are the primary consumers of phytoplankton products (Pomeroy, 1974). Dissolved inorganic phosphate and dissolved inorganic nitrogen rates have no impact on bacterial growth in aggregate whereas chlorophyll *a* and cyanobacteria rates are important. In MPM, aggregated bacteria feed on products from photosynthetic activity (Fuks et al., 2005) and marine mucilage slow hydrolysis may provide the pathway for organic matter accumulation in the pelagic zone (Cowie and Heges, 1984; Cowie et al., 1995; Benner et al., 1992). Bacteria are the primary consumers of marine phytoplankton products but they can however produce organic matter (Pomeroy, 1974). Indeed, bacteria in MPM produce more biomass than those in non-impacted seawater and cause an enrichment of the DOC pool in the pelagic zone (Del Negro et al., 2005).

Degradation of microorganisms mediated by viruses is also known to play an important role in the cycle of marine carbon (Wilhelm and Suttle, 1999). Lysis of the cells contained in the aggregate by the virus permit to renew the DOC pool that will be resuspended and thus available for other microorganisms (Danovaro et al., 2011). In this way, experimental studies demonstrated that viral lysis of phytoplankton and bacterial cells increases the size of organic aggregates (Peduzzi

and Weinbauer, 1993; Shibata et al., 1997) suggesting that viral-mediated mortality of host cells can favor carbon export to the ocean interior.

III. Abiotic factors driving MPM cycle

While MPM common species are capable of secreting EPS under conditions typically encountered throughout the world, this does not automatically lead to MPM formation. Indeed, MPM formation depends on the coupling between biological processes producing polymeric organic matter and the temporal evolution of meteorological, biogeochemical and oceanographic conditions that favor material aggregation (Cozzi et al., 2004; Deserti et al., 2005; Umani et al., 2006). The analysis and the interpretation of those abiotic factors are therefore important in understanding the formation, the persistence through the year and the disruption of such MPM (De Lazzari et al., 2008). In this section, we summarize the main abiotic factors (climatic, hydrological and oceanographic) identified in the literature that support the emergence, persistence or disappearance of MPM. Next, we analyze the trends of those abiotic factors related to global change.

III.1. MPM initiation and persistence

Meteorological, hydrological and oceanographic conditions influence MPM formation (Precali et al., 2005; Degobbi et al., 1995; Precali et al., 2005; Rinaldi et al., 1995). It is important to distinguish three kinds of controlling factors: those driving the phytoplankton production, those controlling the secretory processes and those favoring the aggregation, the extend and the evolution of MPM, once induced (Mingazzini and Thake, 1995a).

Primary production in the coastal zones is partly linked to nutrient supply and organic matter inputs by the rivers. High N/P ratios, with low nutrient concentrations, are often cited as a nutritive stress condition necessary to stimulate the phytoplankton secretory processes, especially diatoms. Increased Total Inorganic Nitrogen/Orthophosphates ratios (TIN/PO₄) are correlated with mucilage event frequency increases (Volf et al., 2013). The phytoplankton composition is also an important factor triggering MPM because the amount and the properties of EPS secreted are species dependent (Mingazzini and Thake, 1995b).

Once large quantities of EPS are in the water column, various physical factors drive their accumulation or dispersion in the water column. Indeed, the high atmospheric pressure gradient between winter and spring conditions (Crisciani and Ferraro, 1990), reduced precipitations, (Provini et al., 1992), increasing temperature and solar irradiance (Herndl et al., 1992) are the main meteorological conditions identified favoring the appearance of blooms which may generate MPM formation. Calm sunny weather favors photosynthesis, stable conditions and low turbulence (Supić et al., 2000) and the development of a strong pycnocline (Balkis et al., 2010; Herndl et al., 1992; Turk et al., 2010) which contribute significantly to the concentration and agglomeration of phytoplankton cells, some producing EPS, as well as other organic and inorganic materials (Faganeli et al., 2010) and therefore to MPM emergence (Degobbis et al., 1995). The spreading of coastal fronts has a great influence on the stratification of the water column and on the circulation of water bodies. That's the reason why, River freshwater loads and its pulses are considered in the mucilage phenomenon (Cozzi et al., 2004). Indeed, in the northern Adriatic, MPM accumulate at the Po River plume front (Degobbis et al., 1995; Precali et al., 2005) and the maximal particle concentration is strongly correlated with increases of the Po river flow, stimulating phytoplankton growth (Russo et al., 2005). River discharge of freshwater and nutrients regulate the condition of coastal ecosystems and drive their hydrology, biogeochemistry and productivity (Cozzi et al., 2012). The interaction between abrupt changes on river inputs (pulses) and coastal circulation favoring retention of low salinity waters is a factor triggering MPM accumulation (Cozzi et al., 2004; Degobbis et al., 1995).

Short-term variability of oceanographic properties may partly explain the seasonal marine MPM development. In northern Adriatic, brutal warming of surface waters in May-June (Russo et al., 2005) accelerates the thermocline formation and thus promotes organic matter accumulation and MPM formation while influencing the composition of plankton communities (Cozzi et al., 2004). Moving eastward freshwater from the Po Delta (Russo et al., 2005) and the intrusion of salt water from the eastern Mediterranean (Crisciano and Ferraro, 1990; Russo et al., 2005) are necessary conditions driving the formation of marine mucilage (Russo et al., 2005).

Weak currents (Grilli et al., 2005) associated with the formation of a gyre (Fanuko and Valčić, 2009; Supić et al., 2000) favor the residence time of freshwater (Precali et al., 2005; Turk et al., 2010) and the presence of a pycnocline may explain the persistence of MPM through the year.

Winds are usually responsible for the dispersion of marine mucilage (Precali et al., 2005; Russo et al., 2005). Complete disruption of MPM generally occurs with a storm event (Grilli et al., 2005) when strong winds and swell induce intense mixing (Precali et al., 2005). This corresponds generally to higher hydrodynamism and a change in the stratification of the water column and current regimes (Grilli et al., 2005).

III.2. Global change as aggravating factor for MPM formation

Occurrence of MPM is correlated with climate positive anomalies (Danovaro et al., 2009) both at global scale with the North Atlantic Oscillation (NAO) and at regional scale with an historical series of temperature data available in the Po Valley–Northern Adriatic Basin (Deserti et al., 2005) (PVNAB). MPM, despite of being a consequence of climate changes, can also contribute to global climate changes and may carry on a feedback control.

Climate change is manifested by a warming of atmospheric temperature about 0.4°C per decade since the 80s-(Alcamo et al., 2007) with decreased rainfalls and snow cover. As a consequence, significant decrease in river flows and nutrient inputs was observed in northern Adriatic (Zanchettin et al. 2008 ; Cozzi and Giani, 2011; Djakovac et al., 2012; Mozetic et al., 2012) which increases costal fronts and salinity and influence the coastal currentology. Salinity increase has been evidenced since the 2000 in the entire north Adriatic Sea (Solidoro et al., 2009), in the eastern part (Djakovac et al., 2012) and in the Gulf of Trieste (Malacic et al., 2006). Changes in the circulation pattern were also noticed (Maric et al., 2012; Giani et al., 2012).

In addition, the improvement of environmental policy exacerbated the decline of the concentration of nutrients in the coastal zone (de Wit and Bendoricchio, 2001). In northern Adriatic, these quantitative (river flow) and qualitative changes (nutrient concentrations) have resulted in a decrease of chlorophyll a in surface waters (Mozetič et al., 2010) and of P and N inputs over the past 30 years. This enhances

nutrient limitations, increases particularly the severity of P limitation and modifies N/P ratios (Solidoro et al., 2009).

Another consequence of climate warming is the increase in sea surface temperature. This phenomenon is well documented since the mid-1980s in the Adriatic Sea (Russo et al., 2002 ; Degobbis et al., 2000). This warming has been attributed to regional atmospheric changes increasing the heat fluxes towards the sea and the rise of the air temperatures (Deserti et al., 2005; Russo et al., 2002). Warming of surface waters affects the communities of plankton in the open ocean and in coastal environments (Falkowski and Oliver, 2007; Goffart et al., 2002; Hays et al., 2005) and causes an increase in the stratification of the water which reduce the supply of nutrients to the photic layer below the pycnocline. Finally, CO₂ diffusion to oceanic waters provokes its acidification which may impact plankton communities and TEP, which become less sticky and more abundant (Mari, 2008).

IV. MPM degradation and dynamic

MPM are not an inert accumulation of largely moribund material but a highly active microbial community where the activities of heterotrophs and autotrophs are mutually supportive (Fogg, 1995). Phytoplankton, bacteria and the produced organic material represent an important food source for bacterial hydrolysis and grazing (Decho, 1990). Those processes as well as any processes able to cause mortality of MPM microorganisms, such as cell necrosis due to nutrient exhaustion, or viral attack, are involved in both the degradation of mucilage as well as in the production of dissolved precursors as their degradation products contribute to the enrichment of dissolved organic matter pool (Bratbak et al., 1993; Fuhrman, 1999).

IV.1. Microbial community as MPM degrader

Bacteria are recognized as the main MPM degraders (Mingazzini and Thake, 1995b). Attached bacteria are more efficient POM degraders than planctonic bacteria which benefit of DOM produced (Tamburini et al., 2013). Active bacterial degradation on polysaccharides compounds appears few days after phytoplankton blooms and polysaccharides exudation (Sanders and Purdie, 1998). MPM-associated bacteria have a very high polysaccharide degradation activity (Zoppini et al., 2005) because bacteria feed on MPM polysaccharidic matrix. Polysaccharidic

degradation activity appears to be higher in mature MPM and lower in mature MPM. The reason seems to be that the polysaccharides network is more dense in mature MPM (Turk et al., 2010). Bacterial consumption of polysaccharides depends heavily on their chemical composition and the more simple molecules are preferentially consumed (Aluwihare and Repeta, 1999; Arnosti, 2000). This degradation activity appears to benefit to surrounding bacteria that can catch DOM from MPM matrix degradation.

IV.2. Bacterial EPS consumption

Pugnetti et al. (2005) showed decoupling between the rate of polysaccharides produced by exudation and phytoplankton biomass formation, with an excess of polysaccharide production via exudation during marine mucilage events. In this way MPM can persist because bacteria are not enough efficient to fully degrade it. In the Adriatic Sea, insufficient degradation of organic matter in MPM by bacteria has been evidenced by low ratios of BCD / TPP <1 (Bacterial Carbon Demand to Total Primary Production). EPS availability depends on their biochemical composition. A study on *Ceratoneis fusiformis*, showed that MPM formation favoring condition increases the polysaccharide production, but also makes these EPS more persistent to bacterial degradation (Puddu et al., 2003). This can select some bacterial taxa living in MPM more able to degrade less available forms of polysaccharides and thus it seems that MPM entrapped bacteria species are not the same as MPM porewater species (Del Negro et al., 2005).

IV.3. Zooplankton grazing on MPM and phytoplankton

MPM can stay a long time in seawater partially because of an insufficient grazing. Grazing is one of the main source of mortality for phytoplankton communities (Banse, 1994). According to mesocosm experiment, TEP abundance plays a key role in grazing on bacterioplankton and phytoplankton communities. It was shown that high abundance of rotifers, polychaete larvae, copepod nauplii and omnivorous calanoid copepods can suppress an increase in phytoplankton biomass (Tang et al., 2006). Indeed TEP inhibit grazing on phytoplankton predators (Dutz et al., 2005). Grazers will eat preferentially smaller particles than entire phytoplankton cells

(Passow and Alldredge, 1999) but not TEP directly (Prieto et al., 2001). Conversely, grazing from flagellates is effective on particle-attached bacteria (Kjørboe et al., 2003). But, high TEP concentration disadvantage grazing on picoplankton and can cause the death for grazer population if its food change in size class because of aggregation (Mari et al., 2004). EPS production by phytoplankton has a refractory effect on zooplankton grazers. As a consequence, they use their fat reserves and the rate of reproduction of micro and mesozooplankton decreases when they are trapped in the aggregates which may explain the low concentration of these organisms in the water (A. B. Bochdansky and Herndl, 1992; Kršinić, 1995). This decline in zooplankton abundance is detrimental to the balance of the foodweb.

IV.4. Viral infection

Viruses are considered as a major mortality factor for phytoplankton and bacterioplankton (Proctor and Fuhrman, 1990; Suttle et al., 1990). Viruses down-regulation on marine microorganisms is important in oceans ecosystems (Wilhelm and Suttle, 1999). This permit diversity control and DOC pool turnover. MPM contain a large diversity of viruses, maybe in response of large total diversity of phytoplankton and bacteria concentrated in (Danovaro et al., 2009). Phytoplankton cells lysis contribute to the accumulation of polysaccharides (Baldi et al., 1997). Then, viral lysis increases the pool of dissolved organic matter and mainly colloidal and polymeric components that are precursors to the formation of mucilage (Weinbauer et al., 2009).

Viral infectious capacities increase considerably with algal bloom (Brussaard, 2004). MPM aging is partly due to viruses lysis on the phytoplankton entrapped in (Del Negro et al., 2005). Viruses are also know to infect bacterial communities during algal blooms (Matteson et al., 2012). It does not seem that there is a coupling between the amount of virus and the amount of bacteria in Adriatic Sea (Karuzza et al., 2012). Viral abundances vary with the age of MPM, the youngest being the least colonized. During MPM maturation, prokaryotes and viruses abundances as well as viruses' virulence increase while they are in aging MPM. Viral abundances also vary with the quality of MPM (Mari et al., 2007) : viruses begin to accumulate in the mature MPM and multiply faster than bacteria. Therefore the ratio virus to

bacteria (VRB) increases along with the age of the MPM. The VRB can be up to more than 100 times higher in a mature MPM than in a young MPM. Indeed, it is notified that virus abundance attached to TEP increases with MPM residence time in seawater. TEP degradation by prokaryotes makes them less sticky which reduces the density of the MPM and keeps them in suspension and so viruses can be involved in changes in buoyancy of aged marine MPM changing its density by cell lysis. This reduces the vertical transport and increases exposure to viral and prokaryotic organisms (Mari et al., 2007). Moreover, viruses degrade effectively cyanobacteria from LPP-group, which play a key role in trichomes formation like *Lyngbya majuscula* (Hewson et al., 2001).

IV.5. Programmed cell death in phytoplankton communities

Programmed cell death (PCD) in phytoplankton can be induced by environmental and physiological stress such as nutrient limitation, age, increased salinity or oxidative stress (Bidle and Falkowski, 2004). PCD in phytoplankton is a form of autocatalytic cell suicide involving morphological changes and biogeochemical pathways known from apoptosis, ultimately leading to the lysis of the cell (Bidle and Falkowski, 2004). Cell lysis play an important role in phytoplankton bloom termination, occasionally resulting in large-scale mucilage formation (Baldi et al., 1997; Lancelot, 1995) and the released cellular material enhances the coagulation of aggregates (Hargraves and French, 1983). Armbrecht et al. (2014) demonstrated that, in the diatom *Coscinodiscus wailesii*, TEP production occurs in particular during stationary and senescent phases and seems enhanced under Si limitation. They suggested that aggregation in *C. wailesii* was more dependent on cell concentration and mortality and that autolysed cytoplasm released after cell death is the major binding agent of *C. wailesii* aggregates.

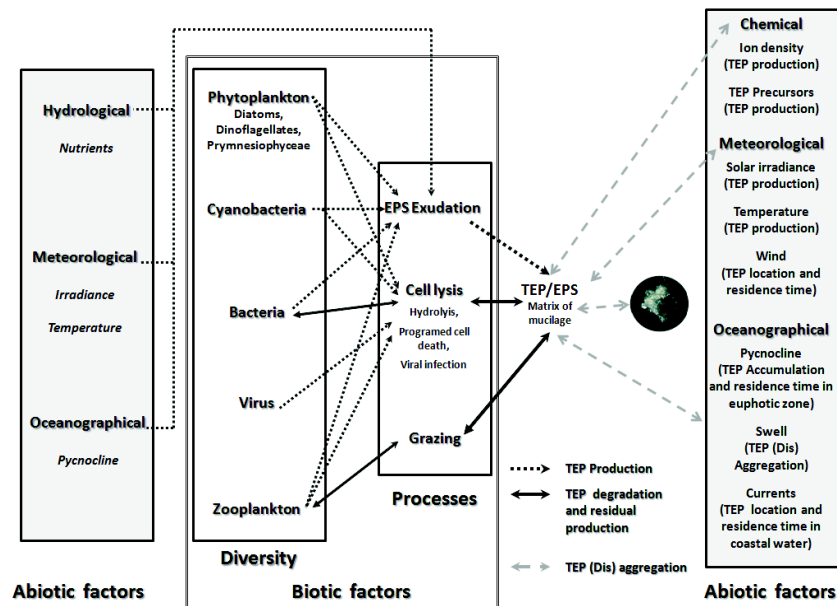


Figure 3: Biotic and abiotic factors driving mucilage formation.

V. Adverse effect of MPM

Mucilage creates serious environmental and socioeconomic effects influencing the amenity of coastal areas and cause problems to recreation, fisheries and aquaculture, public health (Viviani et al., 1995), besides ecological perturbations. Mucilages have been reported to be responsible for a variety of nuisance effects in several northern hemisphere temperate environments (L. MacKenzie et al., 2002).

V.1. Impacts on human activities

Although socio-economic impacts on fishing, bathing and tourism (Danovaro et al., 2009 ; Stachowitsch et al., 1990 ; Degobbis et al., 1995) are often mentioned in the literature, few articles describe specifically those impacts. In this section, we distinguish the concrete impacts described through the literature on human activities such as fishing and tourism and the potential risk associated with MPM.

The impact on tourism industry, which depends heavily on the quality of the environment, has only been quantified by Becheri (1991) who estimate that the appearance of MPM in the 90s in Rimini and their media coverage led to a decline in tourism estimated between 50 and 60%.

The impact of MPM on fishing activity is often mentioned in the Adriatic Sea (Fonda Umani et al., 1989), in the Tyrrhenian sea (Innamorati, 1995), in the Aegean

Sea (Gotsis Skretas, 1995), in the Marmara Sea (Tufekcy et al., 2010; Okyar et al., 2015) in the Tasman Sea (Bradstock & Mackenzie 1981) and in the Japan Sea (Fukao et al., 2012) without being really described. Every time, occurrence of MPM caused physical damage to gill nets and trawl net fisheries by clogging the mesh nets. In the Tyrrhenian Sea, during the summer 1991, nets were so dirty and so heavy by MPM that some fishermen left them sinking in the sea (Innamorati, 1995) and others stopped their activity (Calvo et al., 1995). The European Union has compensated the Italian fishing for as many as 29 million euro for the fishing ban caused by mucilage in the Adriatic Sea in the summer of 2000 (Ecopharm 2003).

As a consequence, MPM cause decrease in fishing yields. In 2010, in the southern Bay of Biscay, Suspérregui et al. (2010) boarded weekly fishing vessels in order to estimate fishing yields in presence or absence of mucilage. 27 pelagic fishnets were sampled between April and October. Each time, they noted the fishnets characteristics (height, length, immersion time, mesh, position in the water column) and the number of all individuals and all species caught (marketable or not). They expressed yields in number of individuals caught per hour immersion and per square meter of pelagic fish net. They were able to demonstrate that both fishing yields and number of species caught decreased significantly during periods of strong presence of mucilage. They also found that the mucilage clogged fishnets and deteriorate working conditions of fishermen. Reduction of catches and affection of the livelihood of fishermen were also observed in the occurrence of net-clogging "slime" in Tasman Bay during the spring of 1981 (Bradstock & Mackenzie 1981).

MPM may also have direct effects on the exploited resources. Indeed, partly explained fluctuations of anchovy catches from 1980 to 1990 in the Adriatic (Regner, 1996) by intensive occurrences of MPM in the main spawning Adriatic areas. Then, fish changed the spawning region that was less favorable for reproduction (Dulcic, 1997). In addition, the survival of both larval stages and adult fishes decreased considerably as mucous matter patches most probably irritate the adult fish physically and act as traps for the early stages (Regner, 1996). Although the impact on pelagic fish stocks is difficult to assess, MPM may damage the hatching success rate of pelagic fish eggs (Rinaldi, 1995). Also, when they settle on the bottom, MPM cause death of large numbers of bivalve mollusca by blocking

their inhalant siphons and affect coelenterate, crustaceans, eggs and larvae of a number of bottom dwelling fish species (Rinaldi, 1995).

V.2. Impacts on human health

No direct impacts of mucilage on human health have been demonstrated (Yentur et al., 2013). Only, a prolonged contact with MPM, mainly in subjects with sensitive skin, can cause dermatitis (Kokelj et al., 1994), which may be explained by the ability of mucilage to concentrate microorganisms of which pathogenic and stinging organisms. In the southern Bay of Biscay, the symptoms described by fishermen through the annual surveys in 2010 only reflect dermatological disorders that result, according to the person's sensitivity, by itching, burning or hives which may be linked to the great presence of cnidarians in MPM (Suspérregui et al., 2010).

Even if a few evidences that mucilage can impact the human health, the risk should be taken into account. Indeed, according to their capacity to accumulate opportunistic and zoonotic pathogens (Danovaro et al., 2009; K. Shapiro et al., 2012), viruses and Harmful Algal Bloom algae (HAB) (Hinder et al., 2011; Ignatiades and Gotsis-Skretas, 2010 ; Alldredge et al., 1998; MacKenzie et al., 2002), MPM cause increasing concern in coastal areas. So, MPM might increase the microbial risk associated with recreational activities and seafood consumption. Their potential associated risks are well described in the literature.

V.3. Impacts on marine ecosystems

The development of marine mucilages in the coastal ecosystems has also a significant ecological impacts on the benthic communities and food web (Leppard, 1995; Metaxatos et al., 2003; Schiaparelli et al., 2007). Indeed, sinking MPM have a negative effect on benthic ecosystems by causing oxygen deficiency, mass mortalities of fish, crustaceans, coelenterates due to hypoxic conditions (Precali et al., 2005; Rinaldi et al., 1995), sponge necrosis (Schiaparelli et al., 2007) and other benthic organisms and trophic disruption (Giuliani et al., 2005; Metaxatos et al., 2003). As a result of these changes, environmental losses are considered (Danovaro et al., 2009; Giuliani et al., 2005; Metaxatos et al., 2003; Rinaldi et al., 1995). In

Tyrrhenian Sea, (Schiaparelli et al., 2007) found bleaching scleractinian *Cladocora caespitosa* and encrusting algae such as Corallinacea and, in extreme cases, severe necrosis of the sponge *Ircinia retidermata* or high mortality of corallites detached from *Leptopsammia pruvoti*. They also affected the gorgonian corals *Paramuricea clavata* (Giuliani et al., 2005), seagrass meadows (*Posidonia oceanica*, Lorenti et al., 2005), light-dependent taxa such as algae and zooxanthellae which lose their photosynthetic efficiency and physiological balance (Parr et al., 2002).

Conclusions and future perspectives

The study of complex phenomena such as mucilage is difficult to assess because many questions arise. Why do MPM appear and how long, do they extend geographically, which mechanisms and factors are involved in their cycle, what is the share of natural phenomena, anthropogenic forcing and global change, can we take action to reduce them or shall we only adapt and predict them are all issues that require a multidisciplinary approach to study the phenomenon.

The abundant literature on MPM deal with scientific hypotheses in relation to mucilage in Adriatic (Degobbis et al., 1999) ,the characterization of algal and microbial mucilage in aquatic ecosystem (Leppard, 1995) or the role of environmental factors in MPM occurrence (Manganelli and Funari, 2003). Others describe transparent exopolymer particles which are involved in MPM formation (Passow, 2002) or global change observed in areas impacted by MPM (Giani et al., 2012). Biological composition and abundance in MPM such as phytoplankton (Balkis et al., 2010; Blažina et al., 2010; Cabrini et al., 1992c; V. Flander-Putrlle and Malej, 2008; L. MacKenzie et al., 2002; Metaxatos et al., 2003; Najdek et al., 2005, 2002; R. Pistocchi et al., 2005; Pompei et al., 2003; Vanucci, 2003; Viviani et al., 1995), cyanobacteria (Fuks et al., 2005; Metaxatos et al., 2003), zooplankton (Okyar et al., 2015) or viruses (Bongiorni et al., 2007; Del Negro et al., 2005) have been mainly studied. In vitro experiments tested the ability of mainly diatoms to secrete EPS under various stress conditions (Chang, 1983; Claquin et al., 2008; Faraloni et al., 2003; Fukao et al., 2012, 2009; Najdek et al., 2005; R. Pistocchi et al., 2005; Staats et al., 2000; Urbani et al., 2005; Wolfstein et al., 2002; Wolfstein and Stal, 2002) and to characterize these EPS (Staats et al., 1999).

The chemical composition of the organic matrix of MPM (Faganeli et al., 2009; Giani et al., 2012, 2005; Giani, 2006; Mecozzi et al., 2012, 2004; Mecozzi and Pietrantonio, 2006; Metaxatos et al., 2003; Mingazzini and Thake, 1995b; Misic et al., 2011; Najdek et al., 2002; Viviani et al., 1995) using isotopic, spectrofluorimetric, spectroscopic or chromatographic approach is well understood. Other studies focused on the conditions which can trigger to MPM occurrence such as trophic conditions (Degobbis et al., 1995; Ricci et al., 2014; Viviani et al., 1995; Volf et al., 2013), oceanographical conditions (Cozzi et al., 2004; De Lazzari et al., 2008; Manganeli and Funari, 2003; Russo et al., 2005; Supić et al., 2002), meteorological conditions (Fanuko et al., 2008; Russo et al., 2005). Correlation between MPM and climate change are analyzed (Danovaro et al., 2009; Deserti et al., 2005; Innamorati et al., 2001) as well as its potential impact on human health (Funari and Ade, 1999; Kokelj et al., 1994; Volterra, 1995).

To predict the phenomenon, some authors modeled it (Jannelli et al., 2003; Thornton et al., 1999; Tomasino, 1996) while others studied its optical properties (Berthon et al., 2000) in order to develop algorithms to locate by remote sensing (Gigliotti, 2013).

Finally, in the literature, different ways to sample mucilages are found. Indeed, most authors sampled MPM by scuba divers (Blažina et al., 2010; Danovaro et al., 2009; Degobbis et al., 2005; Del Negro et al., 2005; MacKenzie et al., 2002; Najdek et al., 2002; Pompei et al., 2003; Bochsansky and Herndl, 1992; Bongiorno et al., 2007; Calvo et al., 1995; Faganeli et al., 2010; Vesna Flander-Putrlle and Malej, 2008; Giani et al., 2005; Kovač et al., 2005; Rossella Pistocchi et al., 2005; Scoullas et al., 2006; Totti et al., 2005), others used Niskin bottles (De Lazzari et al., 2008; Fukao et al., 2009; Innamorati, 1995; Pompei et al., 2003; Pugnetti et al., 2005; Vanucci, 2003; Tüfekçi et al., 2010). MPM were also sampled by recovery on fishing nets (Giani et al., 2012). MPM can also be sampled by sediment traps (Martín and Miquel, 2010; Bochsansky and Herndl, 1992) but this gear is overall used in order to sample marine snow. In Japan, Mishima et al., (1990) developed a NUTA trap system.

Microorganisms' identification in MPM is often made by microscopic techniques, more often by light microscopy, and so eukaryotes are more observed than prokaryotes. Although microscopic approach is necessary to identify flagellates,

ciliates and diatoms in MPM, it appears essential now to combine microscopic approach with molecular biology techniques, like high throughput sequencing, to understand the whole phenomenon with bacterial diversity also. The genomic approach is complementary to the optical approach because it may identify small species or species not easily identifiable by traditional optical observations. In the future, the genomic approach could allow a formal and rapid identification of these species.

Acknowledgements

We acknowledge the financial support of the Aquitaine Regional Government Council (France), the Adour-Garonne water agency and « France Filière Pêche ». We would like to thank all partners for their useful discussions.

References

- Agencia Catalan del agua, 2013. The presence of marine mucilage on several coastal strips in the Baix Camp and Baix Ebre regions.
- Ahel, M., Tepic, N., Terzic, S., 2005. Spatial and temporal variability of carbohydrates in the northern Adriatic—a possible link to mucilage events. *Sci. Total Environ.* 353, 139–150.
- Alcoverro, T., Manzanera, M., Romero, J., 2000. Nutrient mass balance of the seagrass *Posidonia oceanica*: The importance of nutrient retranslocation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 194, 13–21.
- Alderkamp, A.-C., Nejstgaard, J.C., Verity, P.G., Zirbel, M.J., Sazhin, A.F., van Rijssel, M., 2006. Dynamics in carbohydrate composition of *Phaeocystis pouchetii* colonies during spring blooms in mesocosms. *J. Sea Res.* 55, 169–181.
- Allan, G.G., Lewin, J., Johnson, P.G., 1972. Marine Polymers. IV Diatom Polysaccharides. *Bot. Mar.* 15, 102–108.
- Allredge, A.L., 1976. Discarded appendicularian houses as sources of food, surface habitats, and particulate organic matter in planktonic environments. *Limnol Ocean.* 21, 14–23.
- Allredge, A.L., 1979. The chemical composition of macroscopic aggregates in two neretic seas. *Limnol. Oceanogr.* 855–866.
- Allredge, A.L., 1999. The potential role of particulate diatom exudates in forming nuisance mucilaginous scums. *Ann.-Ist. Super. SANITA* 35, 397–400.
- Allredge, A.L., Cole, J.J., Caron, D.A., 1986. Production of heterotrophic bacteria inhabiting macroscopic organic aggregates (marine snow) from surface waters. *Limnol. Oceanogr.* 68–78.
- Allredge, A.L., Crocker, K.M., 1995. Why do sinking mucilage aggregates accumulate in the water column? *Sci. Total Environ.* 165, 15–22.
- Allredge, A.L., Passow, U., Haddock, H.D., 1998. The characteristics and transparent exopolymer particle (TEP) content of marine snow formed from thecate dinoflagellates. *J. Plankton Res.* 20, 393–406.
- Allredge, A.L., Passow, U., Logan, B.E., 1993. The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 40, 1131–1140.
- Allredge, A.L., Silver, M.W., 1988. Characteristics, dynamics and significance of marine snow. *Prog. Oceanogr.* 20, 41–82.
- Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y., Loisel, H., 2008. Seasonal distribution and succession of dominant phytoplankton groups in the global ocean: A satellite view. *Glob. Biogeochem. Cycles* 22.
- Appeltans, W., Ah Yong, S.T., Anderson, G., Angel, M.V., Artois, T., Bailly, N., Bamber, R., Barber, A., Bartsch, I., Berta, A., Błazewicz-Paszkowycz, M., Bock, P., Boxshall, G., Boyko, C.B., Brandão, S.N., Bray, R.A., Bruce, N.L., Cairns, S.D., Chan, T.-Y., Cheng, L., Collins, A.G., Cribb, T., Curini-Galletti, M., Dahdouh-Guebas, F., Davie, P.J.F., Dawson, M.N., De Clerck, O., De Cock, W., De Grave, S., De Voogd, N.J., Domning, D.P., Emig, C.C., Erséus, C., Eschmeyer, W., Fauchald, K., Fautin, D.G., Feist, S.W., Fransen, C.H.J.M., Furuya, H., Garcia-Alvarez, O., Gerken, S., Gibson, D., Gittenberger, A., Gofas, S., Gómez-Daglio, L., Gordon, D.P., Guiry,

- M.D., Hernandez, F., Hoeksema, B.W., Hopcroft, R.R., Jaume, D., Kirk, P., Koedam, N., Koenemann, S., Kolb, J.B., Kristensen, R.M., Kroh, A., Lambert, G., Lazarus, D.B., Lemaitre, R., Longshaw, M., Lowry, J., MacPherson, E., Madin, L.P., Mah, C., Mapstone, G., McLaughlin, P.A., Mees, J., Meland, K., Messing, C.G., Mills, C.E., Molodtsova, T.N., Mooi, R., Neuhaus, B., Ng, P.K.L., Nielsen, C., Norenburg, J., Opresko, D.M., Osawa, M., Paulay, G., Perrin, W., Pilger, J.F., Poore, G.C.B., Pugh, P., Read, G.B., Reimer, J.D., Rius, M., Rocha, R.M., Saiz-Salinas, J.I., Scarabino, V., Schierwater, B., Schmidt-Rhaesa, A., Schnabel, K.E., Schotte, M., Schuchert, P., Schwabe, E., Segers, H., Self-Sullivan, C., Shenkar, N., Siegel, V., Sterrer, W., Stöhr, S., Swalla, B., Tasker, M.L., Thuesen, E.V., Timm, T., Todaro, M.A., Turon, X., Tyler, S., Uetz, P., Van Der Land, J., Vanhoorne, B., Van Ofwegen, L.P., Van Soest, R.W.M., Vanaverbeke, J., Walker-Smith, G., Walter, T.C., Warren, A., Williams, G.C., Wilson, S.P., Costello, M.J., 2012. The magnitude of global marine species diversity. *Curr. Biol.* 22, 2189–2202.
- Armbrecht, L.H., Smetacek, V., Assmy, P., Klaas, C., 2014. Cell death and aggregate formation in the giant diatom *Coscinodiscus wailesii*(Gran & Angst, 1931). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 452, 31–39.
- Arnold, H.E., Kerrison, P., Steinke, M., 2013. Interacting effects of ocean acidification and warming on growth and DMS-production in the haptophyte coccolithophore *Emiliana huxleyi*. *Glob. Change Biol.* 19, 1007–1016.
- Ayers, G.P., Caine, J.M., 2008. The CLAW hypothesis: a review of the major developments. *Environ. Chem.* 4, 366–374.
- Azam, F., 1998. Microbial control of oceanic carbon flux: the plot thickens. *Sci.-N. Y. THEN Wash.* 694–695.
- Azam, F., Fonda Umani, S., Funari, E., 1999. Significance of bacteria in the mucilage phenomenon in the northern Adriatic Sea: State of the art and new scientific hypotheses on the phenomenon of mucilages in the adriatic sea. *Ann. Dell'Istituto Super. Sanità* 35, 411–419.
- Azam, F., Long, R.A., 2001. Oceanography: Sea snow microcosms. *Nature* 414, 495–498.
- Azam, F., Malfatti, F., 2007. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 782–791.
- Baek, S.H., Shin, H.H., Choi, H.-W., Shimode, S., Hwang, O.M., Shin, K., Kim, Y.-O., 2011. Ecological behavior of the dinoflagellate *Ceratium furca* in Jangmok harbor of Jinhae Bay, Korea. *J. Plankton Res.* 33, 1842–1846.
- Baldi, F., Minacci, A., Saliot, A., Mejanelle, L., Mozetic, P., Turk, V., Malej, A., 1997. Cell lysis and release of particulate polysaccharides in extensive marine mucilage assessed by lipid biomarkers and molecular probes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 153, 45–57.
- Balkis, N., Atabay, H., Türetgen, I., Albayrak, S., Balkis, H., Tüfekçi, V., 2010. Role of single-celled organisms in mucilage formation on the shores of Büyükada Island (the Marmara Sea). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 91, 771–781.
- Banks, A.C., Prunet, P., Chimot, J., Pina, P., Donnadille, J., Jeansou, E., Lux, M., Petihakis, G., Korres, G., Triantafyllou, G., Fontana, C., Estournel, C., Ulses, C., Fernandez, L., 2012. A

- satellite ocean color observation operator system for eutrophication assessment in coastal waters. *J. Mar. Syst.* 94, Supplement, S2–S15.
- Banse, K., 1994. Grazing and zooplankton production as key controls of phytoplankton production in the open ocean. *Oceanography* 7, 13–20.
- Bates, N.R., Michaels, A.F., Knap, A.H., 1996. Alkalinity changes in the Sargasso Sea: geochemical evidence of calcification? *Mar. Chem.* 51, 347–358.
- Becheri, E., 1991. Rimini and co—The end of a legend?: Dealing with the algae effect. *Tour. Manag.* 12, 229–235.
- Beers, J.R., Trent, J.D., Reid, F.M.H., Shanks, A.L., 1986. Macroaggregates and their phytoplanktonic components in the Southern California Bight. *J. Plankton Res.* 8, 475–487.
- Berthon, J.-F., Zibordi, G., Hooker, S.B., 2000. Marine optical measurements of a mucilage event in the northern Adriatic Sea. *Limnology and oceanography* 45, 322–327.
- Berto, D., Giani, M., Taddei, P., Bottura, G., 2005. Spectroscopic evidence of the marine origin of mucilages in the Northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 247–257.
- Bianchi, T.S., Rolff, C., Widbom, B., Elmgren, R., 2002. Phytoplankton pigments in Baltic Sea seston and sediments: seasonal variability, fluxes, and transformations. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 55, 369–383.
- Bianchi G., 1746. Descrizione del Tremuoto grande che vi fu in Arimino l'anno 1672 adi 14 aprile il Giovedì Santo alle ore 22 in circa. In: *Raccolte d'Opuscoli scientifici e filosofici*, t. XXXXIV, 243-258.
- Biddanda, B., Ogdahl, M., Cotner, J., 2001. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnol. Oceanogr.* 46, 730–739.
- Bidle, K.D., Falkowski, P.G., 2004. Cell death in planktonic, photosynthetic microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 643–655.
- Blažina, M., Najdek, M., Fuks, D., Smodlaka, N., 2010. Microbial communities in northern Adriatic mucilaginous aggregates: insight into the early phase of aggregate formation. *Hydrobiologia* 658, 213–220.
- Bongiorni, L., Armeni, M., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2007. Viruses, prokaryotes and biochemical composition of organic matter in different types of mucilage aggregates. *Aquat. Microb. Ecol.* 49, 15–23.
- Borsheim, K.Y., 2005. Photosynthetic algal production, accumulation and release of phytoplankton storage carbohydrates and bacterial production in a gradient in daily nutrient supply. *J. Plankton Res.* 27, 743–755.
- Bratbak, G., Egge, J.K., Heldal, M., 1993. Viral mortality of the marine alga *Emiliana huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 93, 39–48.
- Brehm, U., Krumbein, W.E., Palińska, K.A., 2003. Microbial spheres: a novel cyanobacterial-diatom symbiosis. *Naturwissenschaften* 90, 136–140.
- Brussaard, C.P., 2004. Viral Control of Phytoplankton Populations—a Review1. *J. Eukaryot. Microbiol.* 51, 125–138.
- Buesseler, K.O., Bacon, M.P., Kirk Cochran, J., Livingston, H.D., 1992. Carbon and nitrogen export

- during the JGOFS North Atlantic Bloom experiment estimated from ^{234}Th : ^{238}U disequilibria. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 39, 1115–1137.
- Buitenhuis, E.T., Pangerc, T., Franklin, D.J., Quéré, C.L., Malin, G., 2008. Growth rates of six coccolithophorid strains as a function of temperature. *Limnol. Oceanogr.* 53, 1181–1185.
- Buitenhuis, E.T., van der Wal, P., de Baar, H.J.W., 2001. Blooms of *Emiliana huxleyi* are sinks of atmospheric carbon dioxide: A field and mesocosm study derived simulation. *Glob. Biogeochem. Cycles* 15, 577–587.
- Cabrini, M., Fonda Umani, S., Honsell, G., 1992. Mucilaginous aggregates in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea): analysis of the phytoplanktonic communities in the period June-August 1989. *Sci. Total Environ.* 557–568.
- Cabrini, M., Fornasaro, D., Cossarini, G., Lipizer, M., Virgilio, D., 2012. Phytoplankton temporal changes in a coastal northern Adriatic site during the last 25 years. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 115, 113–124.
- Caron, D.A., Davis, P.G., Madin, L.P., Sieburth, J.M., 1982. Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoa in oceanic macroaggregates. *Sci. N. Y. NY* 218, 795.
- Carpenter, L.J., Archer, S.D., Beale, R., 2012. Ocean-atmosphere trace gas exchange. *Chem. Soc. Rev.* 41, 6473–6506.
- Chang, F.H., 1983. The mucilage-producing *Phaeocystis pouchetii* (Prymnesiophyceae), cultured from the 1981 “Tasman Bay slime.” *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 17, 165–168.
- Charlson, R.J., Lovelock, J.E., Andreae, M.O., Warren, S.G., 1987. Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. *Nature* 326, 655–661.
- Chen, W., Wangersky, P.J., 1996. Rates of microbial degradation of dissolved organic carbon from phytoplankton cultures. *J. Plankton Res.* 18, 1521–1533.
- Claquin, P., Probert, I., Lefebvre, S., Veron, B., 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquat. Microb. Ecol.* 51, 1.
- CNRS, 2000. Climate-carbon feedbacks associated with CO₂ anthropogenic emissions using the IPSL coupled model. *La Lettre du Changement global*. Extract from the letter No.11.
- Conversi, A., Umani, S.F., Peluso, T., Molinero, J.C., Santojanni, A., Edwards, M., 2010. The Mediterranean Sea regime shift at the end of the 1980s, and intriguing parallels with other European basins. *Plos One* 5, e10633.
- Cozzi, S., Falconi, C., Comici, C., Čermelj, B., Kovac, N., Turk, V., Giani, M., 2012. Recent evolution of river discharges in the Gulf of Trieste and their potential response to climate changes and anthropogenic pressure. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 115, 14–24.
- Cozzi, S., Ivančić, I., Catalano, G., Djakovac, T., Degobbis, D., 2004. Dynamics of the oceanographic properties during mucilage appearance in the Northern Adriatic Sea: analysis of the 1997 event in comparison to earlier events. *J. Mar. Syst.* 50, 223–241.
- Crisciani, F., Ferraro, S., 1990. Climatological aspects of the occurrence of “mare sporco” (dirty sea) episodes in the northern Adriatic Sea during the period 1841-1990. *Boll. Oceanol. Teor. Ed Appl.* 8, 289–298.

- Cupp, E.E., 1943. Marine Plankton Diatoms of the West Coast of North America.
- Cushing, D.H., 1989. A difference in structure between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are only weakly stratified. *J. Plankton Res.* 11, 1–13.
- Danovaro, R., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Fuhrman, J.A., Middelburg, J.J., Noble, R.T., Suttle, C.A., 2011. Marine viruses and global climate change. *FEMS Microbiol. Rev.* 35, 993–1034.
- Danovaro, R., Fonda Umani, S., Pusceddu, A., 2009. Climate Change and the Potential Spreading of Marine Mucilage and Microbial Pathogens in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE* 4, e7006.
- Decho, A.W., 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role (s) in food webs and marine processes. *Ocean. Mar Biol Annu Rev* 28, 73–153.
- Decho, A.W., 2000. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Cont. Shelf Res.* 20, 1257–1273.
- Degobbi, D., Fonda-Umani, S., Franco, P., Malej, A., Precali, R., Smodlaka, N., 1995. Changes in the northern Adriatic ecosystem and the hypertrophic appearance of gelatinous aggregates. *Sci. Total Environ.* 165, 43–58.
- Degobbi, D., Malej, A., Umani, S.F., 1998. The mucilage phenomenon in the northern Adriatic Sea. A critical review of the present scientific hypotheses. *Ann. Dell'Istituto Super. Sanità* 35, 373–381.
- Degobbi, D., Precali, R., Ferrari, C.R., Djakovac, T., Rinaldi, A., Ivančić, I., Gismondi, M., Smodlaka, N., 2005. Changes in nutrient concentrations and ratios during mucilage events in the period 1999–2002. *Sci. Total Environ.* 353, 103–114.
- Degobbi, D., Precali, R., Ivancic, I., Smodlaka, N., Fuks, D., Kveder, S., 2000. Long-term changes in the northern Adriatic ecosystem related to anthropogenic eutrophication. *Int. J. Environ. Pollut.* 13, 495–533.
- De Lazzari, A., Berto, D., Cassin, D., Boldrin, A., Giani, M., 2008. Influence of winds and oceanographic conditions on the mucilage aggregation in the Northern Adriatic Sea in 2003–2006. *Mar. Ecol.* 29, 469–482.
- Del Negro, P., Crevatin, E., Larato, C., Ferrari, C., Totti, C., Pompei, M., Giani, M., Berto, D., Fonda Umani, S., 2005. Mucilage microcosms. *Sci. Total Environ.* 353, 258–269.
- De Philippis, R., Faraloni, C., Sili, C., Vincenzini, M., 2005. Populations of exopolysaccharide-producing cyanobacteria and diatoms in the mucilaginous benthic aggregates of the Tyrrhenian Sea (Tuscan Archipelago). *Sci. Total Environ.* 353, 360–368.
- Deserti, M., Cacciamani, C., Chiggiato, J., Rinaldi, A., Ferrari, C.R., 2005. Relationships between northern Adriatic Sea mucilage events and climate variability. *Sci. Total Environ.* 353, 82–88.
- De Wit, M., Bendoricchio, G., 2001. Nutrient fluxes in the Po basin. *Sci. Total Environ.* 273, 147–161.
- Dutz, J., Klein Breteler, W.C.M., Kramer, G., 2005. Inhibition of copepod feeding by exudates and transparent exopolymer particles (TEP) derived from a *Phaeocystis globosa* dominated phytoplankton community. *Harmful Algae* 4, 929–940.
- Du Yoo, Y., Jeong, H.J., Kim, M.S., Kang, N.S., Song, J.Y., Shin, W., Kim, K.Y., Lee, K., 2009. Feeding by Phototrophic Red-Tide Dinoflagellates on the Ubiquitous Marine Diatom

- Skeletonema costatum. *J. Eukaryot. Microbiol.* 56, 413–420.
- Ecopharm, (2003), The socio-economic impact of harmful algal blooms in European Union countries, Wageningen university social science, pp. 1-83.
- Engel, A., Passow, U., 2001. Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 219, 1–10.
- Faganeli, J., Mohar, B., Kofol, R., Pavlica, V., Marinšek, T., Rozman, A., Kovač, N., Vuk, A.Š., 2010. Nature and Lability of Northern Adriatic Macroaggregates. *Mar. Drugs* 8, 2480–2492.
- Fajon, C., Cauwet, G., Lebaron, P., Terzic, S., Ahel, M., Malej, A., Mozetic, P., Turk, V., 1999. The accumulation and release of polysaccharides by planktonic cells and the subsequent bacterial response during a controlled experiment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 29, 351–363.
- Falkowski, P.G., Oliver, M.J., 2007. Mix and match: How climate selects phytoplankton. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 813–819.
- Fanuko, N., Valčić, M., 2009. Phytoplankton composition and biomass of the northern Adriatic lagoon of Stella Maris, Croatia. *Acta Bot. Croat.* 68, 29–44.
- Flander-Putrlle, V., Malej, A., 2008. The evolution and phytoplankton composition of mucilaginous aggregates in the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae* 7, 752–761.
- Fogg, G.E., 1995. Some speculations on the nature of the pelagic mucilage community of the northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 165, 59–63.
- Fuhrman, J.A., 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399, 541–548.
- Fukao, T., Kimoto, K., Kotani, Y., 2012. Effect of temperature on cell growth and production of transparent exopolymer particles by the diatom *Coscinodiscus granii* isolated from marine mucilage. *J. Appl. Phycol.* 24, 181–186.
- Fukao, T., Kimoto, K., Yamatogi, T., Yamamoto, K., Yoshida, Y., Kotani, Y., 2009. Marine mucilage in Ariake Sound, Japan, is composed of transparent exopolymer particles produced by the diatom *Coscinodiscus granii*. *Fish. Sci.* 75, 1007–1014.
- Fukao, T., Kimoto, K., Yamatogi, T., Yamamoto, K., Yurimoto, T., Kotani, Y., 2008. Mucilage phenomenon in Ariake Sound [Japan] during autumn, 2007 and estimation of the causative phytoplankton. *Bull. Plankton Soc. Jpn.* 55.
- Fuks, D., Radić, J., Radić, T., Najdek, M., Blažina, M., Degobbi, D., Smoldaka, N., 2005. Relationships between heterotrophic bacteria and cyanobacteria in the northern Adriatic in relation to the mucilage phenomenon. *Sci. Total Environ.* 353, 178–188.
- Gärdes, A., Iversen, M.H., Grossart, H.P., Passow, U., Ullrich, M.S., 2010. Diatom-associated bacteria are required for aggregation of *Thalassiosira weissflogii*. *ISME J.* 5, 436–445.
- Giani, M., Berto, D., Zangrando, V., Castelli, S., Sist, P., Urbani, R., 2005. Chemical characterization of different typologies of mucilaginous aggregates in the Northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 232–246.
- Giani, M., Cicero, A.M., Savelli, F., Bruno, M., Donati, G., Farina, A., Veschetti, E., Volterra, L., 1992. Marine snow in the Adriatic Sea: A multifactorial study. *Sci. Total Environ.* 539–550.
- Giani, M., Sist, P., Berto, D., Serrazanetti, G.P., Ventrella, V., Urbani, R., 2012. The organic matrix

- of pelagic mucilaginous aggregates in the Tyrrhenian Sea (Mediterranean Sea). *Mar. Chem.* 132–133, 83–94.
- Giani M., Berto D., Cornello M., Sartoni G., Rinaldi A., 2005. Le mucillagini nell'Adriatico e nel Tirreno. Editrice Millenium.
- Gigliotti, A., 2013. Extracting temporal and spatial distributions information about marine mucilage phenomenon based on Modis satellite images; a case study of the Tyrrhenian and the Adriatic Sea, 2010-2012.
- Godrijan, J., Marić, D., Tomažić, I., Precali, R., Pfannkuchen, M., 2013. Seasonal phytoplankton dynamics in the coastal waters of the north-eastern Adriatic Sea. *J. Sea Res.* 77, 32–44.
- Goffart, A., Hecq, J.-H., Legendre, L., 2002. Changes in the development of the winter-spring phytoplankton bloom in the Bay of Calvi (NW Mediterranean) over the last two decades: a response to changing climate? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 236.
- Goldman, J.C., 1984. Conceptual role for microaggregates in pelagic waters. *Bull. Mar. Sci.* 35, 462–476.
- Goldman, J.C., 1988. Spatial and temporal discontinuities of biological processes in pelagic surface waters, in: *Toward a Theory on Biological-Physical Interactions in the World Ocean*. Springer, pp. 273–296.
- Gotsis-Skretas, O., 1995. Mucilage appearances in Greek waters during 1982–1994. *Sci. Total Environ.*
- Graf, G., Bengtsson, W., Diesner, U., Schulz, R., Theede, H., 1982. Benthic response to sedimentation of a spring phytoplankton bloom: process and budget. *Mar. Biol.* 67, 201–208.
- Gram, L., Grossart, H.-P., Schlingloff, A., Kiørboe, T., 2002. Possible quorum sensing in marine snow bacteria: production of acylated homoserine lactones by *Roseobacter* strains isolated from marine snow. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 4111–4116.
- Graneli, E., Carlsson, P., Turner, J.T., Tester, P.A., Béchemin, C., Dawson, R., Funari, E., 1999. Effects of N: P: Si ratios and zooplankton grazing on phytoplankton communities in the northern Adriatic Sea. I. Nutrients, phytoplankton biomass, and polysaccharide production. *Aquat. Microb. Ecol.* 18, 37–54.
- Granum, E., KIRKVOLD, S., Mykkestad, S.M., 2002. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: diel variations and effects of N depletion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 242, 83–94.
- Green, E.P., Dagg, M.J., 1997. Mesozooplankton associations with medium to large marine snow aggregates in the northern Gulf of Mexico. *J. Plankton Res.* 19, 435–447.
- Grilli, F., Marini, M., Degobbis, D., Ferrari, C.R., Fornasiero, P., Russo, A., Gismondi, M., Djakovac, T., Precali, R., Simonetti, R., 2005. Circulation and horizontal fluxes in the northern Adriatic Sea in the period June 1999–July 2002. Part II: Nutrients transport. *Sci. Total Environ.* 353, 115–125.
- Grossart, H.P., 1999. Interactions between marine bacteria and axenic diatoms (*Cylindrotheca fusiformis*, *Nitzschia laevis*, and *Thalassiosira weissflogii*) incubated under various conditions in the lab. *Aquat. Microb. Ecol.* 19, 1–11.

- Grossart, H.-P., Ploug, H., 2000. Bacterial production and growth efficiencies: Direct measurements on riverine aggregates. *Limnol. Oceanogr.* 45, 436–445.
- Grossart, H.-P., Simon, M., 1998. Bacterial colonization and microbial decomposition of limnetic organic aggregates (lake snow). *Aquat. Microb. Ecol.* 15, 127–140.
- Grossart, H.P., Simon, M., Logan, B.E., 1997. Formation of macroscopic organic aggregates (lake snow) in a large lake: The significance of transparent exopolymer particles, phytoplankton, and zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 1651–1659.
- Hargraves, P.E., French, F.W., 1983. Diatom resting spores: significance and strategies. In: Fryxell, G.A. (Ed.), *Survival Strategies of the Algae*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 49–68.
- Hasle, G.R., Tomas, C.R., 2007. *Identifying marine phytoplankton*. Academic Press.
- Haug, A., Myklestad, S., 1976. Polysaccharides of marine diatoms with special reference to *Chaetoceros* species. *Mar. Biol.*
- Hays, G.C., Richardson, A.J., Robinson, C., 2005. Climate change and marine plankton. *Trends Ecol. Evol.* 20, 337–344.
- Herndl, G.J., 1988. The ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the northern Adriatic Sea. *Mar. Ecol.* 48, 265–275.
- Herndl, G.J., Arrieta, J.M., Stoderegger, K., 1999. Interaction between specific hydrological and microbial activity leading to extensive mucilage formation in the northern Adriatic Sea. *Ann.-Ist. Super. SANITA* 35, 405–410.
- Herndl, G.J., Karner, M., Peduzzi, P., 1992. Floating mucilage in the Northern Adriatic Sea: the potential of a microbial ecological approach to solve the mystery. *Sci. Total Environ.* 525–538.
- Herndl, G.J., Peduzzi, P., 1988. The ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the northern Adriatic Sea. *Mar. Ecol.* 9, 79–90.
- Herndl, G.J., Peduzzi, P., Fanuko, N., 1989. Benthic community metabolism and microbial dynamics in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Oldendorf 53, 169–178.
- Hewson, I., O’Neil, J.M., Dennison, W.C., 2001. Virus-like particles associated with *Lyngbya majuscula* (Cyanophyta; Oscillatoriaceae) bloom decline in Moreton Bay, Australia. *Aquat. Microb. Ecol.* 25, 207–213.
- Hinder, S.L., Hays, G.C., Brooks, C.J., Davies, A.P., Edwards, M., Walne, A.W., Gravenor, M.B., 2011. Toxic marine microalgae and shellfish poisoning in the British isles: History, review of epidemiology, and future implications. *Environ. Health Glob. Access Sci. Source* 10.
- Hong, Y., Smith, W.O., White, A.-M., 1997. Studies on transparent exopolymeric particles (TEP) produced in the Ross sea (Antartica) and by *Phaeocysits antartica* (*Prymnesiophyceae*) 1. *J. Phycol.* 33, 368–376.
- Hoppenrath, M., 2004. A revised checklist of planktonic diatoms and dinoflagellates from Helgoland (North Sea, German Bight). *Helgol. Mar. Res.* 58, 243–251.
- Horner, R.A., 2002. *A taxonomic guide to some common marine phytoplankton*. Biopress Bristol.
- Hurley, D.E., 1982. The “Nelson Slime”: Observations on Past Occurrences. New Zealand Oceanographic Institute.

- Ignatiades, L., Gotsis-Skretas, O., 2010. A review on toxic and harmful algae in Greek coastal waters (E. Mediterranean Sea). *Toxins* 2, 1019–1037.
- Innamorati, M., 1995. Hyperproduction of mucilages by micro and macro algae in the Tyrrhenian Sea. *Sci. Total Environ.* 165, 65–81.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. *Climate Change 2007—Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Ed. by M. I. Parry, O. F. Canziani, J. P. Patulikof, P. J. van der Linden, and C. E. Hanson. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 976 pp.
- Ivanova, E.P., Flavier, S., Christen, R., 2004. Phylogenetic relationships among marine Alteromonas-like proteobacteria: emended description of the family Alteromonadaceae and proposal of Pseudoalteromonadaceae fam. nov., Colwelliaceae fam. nov., Shewanellaceae fam. nov., Moritellaceae fam. nov., Ferrimonadaceae fam. nov., Idiomarinaceae fam. nov. and Psychromonadaceae fam. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 1773–1788.
- Jang, S.R.J., Baglama, J., Rick, J., 2006. Nutrient-phytoplankton-zooplankton models with a toxin. *Math. Comput. Model.* 43, 105–118.
- Juul-Pedersen, T., Michel, C., Gosselin, M., 2010. Sinking export of particulate organic material from the euphotic zone in the eastern Beaufort Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 410, 55–70.
- Karsenti, E., 2012. A journey from reductionist to systemic cell biology aboard the schooner Tara. *Mol. Biol. Cell* 23, 2403–2406.
- Karuzza, A., Umami, S.F., Del Negro, P., 2012. The (un)coupling between viruses and prokaryotes in the Gulf of Trieste. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*
- Keller, D.P., Hood, R.R., 2013. Comparative simulations of dissolved organic matter cycling in idealized oceanic, coastal, and estuarine surface waters. *J. Mar. Syst.* 109–110, 109–128.
- Kemp, A.E., Pearce, R.B., Grigorov, I., Rance, J., Lange, C.B., Quilty, P., Salter, I., 2006. Production of giant marine diatoms and their export at oceanic frontal zones: Implications for Si and C flux from stratified oceans. *Glob. Biogeochem. Cycles* 20.
- Kepkay, P.E., 1994. Particle aggregation and the biological reactivity of colloids. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 109, 293–293.
- Kjørboe, T., Hansen, J.L., 1993. Phytoplankton aggregate formation: Observations of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material. *J. Plankton Res.* 15, 993–1018.
- Kjørboe, T., Hansen, J.L., Alldredge, A.L., Jackson, G.A., Passow, U., Dam, H.G., Drapeau, D.T., Waite, A., Garcia, C.M., 1996. Sedimentation of phytoplankton during a diatom bloom: rates and mechanisms. *J. Mar. Res.* 54, 1123–1148.
- Kjørboe, T., Lundsgaard, C., Olesen, M., Hansen, J.L., 1994. Aggregation and sedimentation processes during a spring phytoplankton bloom: A field experiment to test coagulation theory. *J. Mar. Res.* 52, 297–323.
- Kjørboe, T., Tang, K., Grossart, H.-P., Ploug, H., 2003. Dynamics of microbial communities on marine snow aggregates: colonization, growth, detachment, and grazing mortality of attached

- bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3036–3047.
- Knauer, G.A., Hebel, D., Cipriano, F., 1982. Marine snow: major site of primary production in coastal waters.
- Kokelj, F., Trevisan, G., Stinco, G., Piscanc, A.M., 1994. Skin damage caused by mucilaginous aggregates in the Adriatic sea. *Contact Dermatitis* 31, 257–259.
- Kraberg, A.C., Baumann, M., Dürselen, C.-D., 2010. Coastal phytoplankton: photo guide for northern European seas.
- Kranck, K., Milligan, T.G., 1988. Macroflocs from diatoms: in situ photography of particles in Bedford Basin, Nova Scotia. *Mar. Ecol. Prog. Ser. Oldendorf* 44, 183–189.
- Kraus, R., Supić, N., 2011. Impact of circulation on high phytoplankton blooms and fish catch in the northern Adriatic (1990–2004). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 91, 198–210.
- Lancelot, C., 1995. The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. *Sci. Total Environ.* 165, 83–102.
- Lancelot, C., Wassmann, P., Barth, H.R., 1994. Ecology of Phaeocystis-dominated ecosystems. *J. Mar. Syst.* 5.
- Legendre, L., 1990. The significance of microalgal blooms for fisheries and for the export of particulate organic carbon in oceans. *J. Plankton Res.* 12, 681–699.
- Leppard, G.G., 1995. The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems. *Sci. Total Environ.* 165, 103–131.
- Lignell, R., 1990. Excretion of organic carbon by phytoplankton: its relation to algal biomass, primary productivity and bacterial secondary productivity in the Baltic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 68, 85–99.
- Liu, H., Buskey, E.J., 2000. Hypersalinity enhances the production of extracellular polymeric substance (EPS) in the Texas brown tide alga, *Aureoumbra lagunensis* (Pelagophyceae). *J. Phycol.* 36, 71–77.
- MacKenzie, L., Sims, I., Beuzenberg, V., Gillespie, P., 2002. Mass accumulation of mucilage caused by dinoflagellate polysaccharide exudates in Tasman Bay, New Zealand. *Harmful Algae* 1, 69–83.
- Malej, A., Mozetic, P., Malacic, V., Terzic, S., Ahel, M., 1995. Phytoplankton responses to freshwater inputs in a small semi-enclosed gulf (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 120, 111–122.
- Mari, X., 2008. Does ocean acidification induce an upward flux of marine aggregates? *Biogeosciences Discuss.* 5, 1631–1654.
- Mari, X., Kerros, M.-E., Weinbauer, M.G., 2007. Virus attachment to transparent exopolymeric particles along trophic gradients in the southwestern lagoon of New Caledonia. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5245–5252.
- Mari, X., Kiørboe, T., 1996. Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymeric particles (TEP) during spring in the Kattegat. *J. Plankton Res.* 18, 969–986.
- Mari, X., Rassoulzadegan, F., Brussaard, C.P.D., 2004. Role of TEP in the microbial food web structure. II. Influence on the ciliate community structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 279, 23–32.

- Martín, J., Miquel, J.-C., 2010. High downward flux of mucilaginous aggregates in the Ligurian Sea during summer 2002: similarities with the mucilage phenomenon in the Adriatic Sea. *Mar. Ecol.* 31, 393–406.
- Martín, J., Miquel, J.-C., 2010. High downward flux of mucilaginous aggregates in the Ligurian Sea during summer 2002: similarities with the mucilage phenomenon in the Adriatic Sea.
- Martin, P., Lampitt, R.S., Jane Perry, M., Sanders, R., Lee, C., D'Asaro, E., 2011. Export and mesopelagic particle flux during a North Atlantic spring diatom bloom. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 58, 338–349.
- Matteson, A.R., Loar, S.N., Pickmere, S., Debruyne, J.M., Ellwood, M.J., Boyd, P.W., Hutchins, D.A., Wilhelm, S.W., 2012. Production of viruses during a spring phytoplankton bloom in the South Pacific Ocean near of New Zealand. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79, 709–719.
- McCarthy, J.J., Goldman, J.C., 1979. Nitrogenous nutrition of marine phytoplankton in nutrient-depleted waters. *Science* 203, 670–672.
- Metaxatos, A., Panagiotopoulos, C., Ignatiades, L., 2003. Monosaccharide and aminoacid composition of mucilage material produced from a mixture of four phytoplanktonic taxa. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 294, 203–217.
- Mingazzini, M., Thake, B., 1995. Summary and conclusions of the workshop on marine mucilages in the Adriatic Sea and elsewhere. *Sci. Total Environ.* 165, 9–14.
- Miralto, A., Barone, G., Romano, G., Poulet, S.A., Ianora, A., Russo, G.L., Buttino, I., Mazzarella, G., Laabir, M., Cabrini, M., 1999. The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature* 402, 173–176.
- Monti, M., Welker, C., Dellavalle, G., Casaretto, L., Umani, S.F., 1995. Mucous aggregates under natural and laboratory conditions: a review. *Sci. Total Environ.* 165, 145–154.
- Mozetič, P., Solidoro, C., Cossarini, G., Socal, G., Precali, R., Francé, J., Bianchi, F., De Vittor, C., Smoljaka, N., Umani, S.F., 2010. Recent trends towards oligotrophication of the northern Adriatic: evidence from chlorophyll a time series. *Estuaries Coasts* 33, 362–375.
- Müller-Niklas, G., Schuster, S., Kaltenböck, E., Herndl, G.J., 1994. Organic content and bacterial metabolism in amorphous aggregations of the northern Adriatic Sea. *Limnol. Oceanogr.* 39, 58–68.
- Mykkestad, S., 1974. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 15, 261–274.
- Mykkestad, S., 1977. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. II. Influence of the NP ratio in the growth medium on the assimilation ratio, growth rate, and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. *willei*(Gran) Hustedt and *Skeletonema costatum*(Grev.) Cleve. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 29, 161–179.
- Mykkestad, S., Haug, A., 1972. Production of carbohydrates by the marine diatom *Chaetoceros affinis* var. *willei*(Gran) Hustedt. I. Effect of the concentration of nutrients in the culture medium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 9, 125–136.
- Mykkestad, S.M., 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Sci. Total Environ.* 165, 155–164.

- Myklestad, S.M., 1999. Phytoplankton extracellular production and leakage with considerations on the polysaccharide accumulation. *Ann.-Ist. Super. SANITA* 35, 401–404.
- Najdek, M., Blazina, M., Djakovac, T., Kraus, R., 2005. The role of the diatom *Cylindrotheca closterium* in a mucilage event in the northern Adriatic Sea: coupling with high salinity water intrusions. *J. Plankton Res.* 27, 851–862.
- Najdek, M., Debobbis, D., Mioković, D., Ivančević, I., 2002. Fatty acid and phytoplankton compositions of different types of mucilaginous aggregates in the Northern Adriatic. *J. Plankton Res.* 24, 429–441.
- Nikolaidis, G., Moschandreou, K., Koukaras, K., Aligizaki, K., Kalopesa, E., Heracleous, A., 2006. The use of chlorophyll-a for trophic state assessment of water masses in the inner part of Thermaikos bay(NW Aegean Sea). *Fresenius Environ. Bull.* 15, 1193–1198.
- Not, F., Siano, R., Kooistra, W.H.C.F., Simon, N., Vaultot, D., Probert, I., 2012. Chapter One - Diversity and Ecology of Eukaryotic Marine Phytoplankton, in: Gwenaël Piganeau (Ed.), *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp. 1–53.
- Obernosterer, I., Herndl, G.J., 1995. Phytoplankton extracellular release and bacterial growth: dependence on the inorganic N: P ratio. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Oldendorf 116, 247–257.
- Okyar, M.İ., Üstün, F., Orun, D.A., 2015. Changes in abundance and community structure of the zooplankton population during the 2008 mucilage event in the northeastern Marmara Sea. *Turkish Journal of Zoology* 39, 28–38.
- Parikh, A., Madamwar, D., 2006. Partial characterization of extracellular polysaccharides from cyanobacteria. *Bioresour. Technol.* 97, 1822–1827.
- Passow, U., 2000. Formation of transparent exopolymer particles, TEP, from dissolved precursor material. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 192, 1–11.
- Passow, U., 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Prog. Oceanogr.* 55, 287–333.
- Passow, U., Alldredge, A.L., 1994. Distribution, size and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 113, 185–198.
- Passow, U., Alldredge, A.L., 1999. Do transparent exopolymer particles (TEP) inhibit grazing by the euphausiid *Euphausia pacifica*? *J. Plankton Res.* 21, 2203–2217.
- Passow, U., Alldredge, A.L., Logan, B.E., 1994. The role of particulate carbohydrate exudates in the flocculation of diatom blooms. *Deep-Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 41, 335–357.
- Passow, U., Carlson, C.A., 2012. The biological pump in a high CO₂ world. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 470, 249–271.
- Passow, U., Shipe, R.F., Murray, A., Pak, D.K., Brzezinski, M.A., Alldredge, A.L., 2001. The origin of transparent exopolymer particles (TEP) and their role in the sedimentation of particulate matter. *Cont. Shelf Res.* 21, 327–346.
- Passow, U., Wassmann, P., 1994. On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii* (Hariot): IV. The formation of marine snow by *P. pouchetii*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 104, 153–161.
- Peduzzi, P., Weinbauer, M.G., 1993. The submicron size fraction of seawater containing high numbers of virus particles as bioactive agent in unicellular plankton community successions. *J.*

- Plankton Res. 15, 1375–1386.
- Penna, A., Berluti, S., Penna, N., Magnani, M., 1999. Influence of nutrient ratios on the in vitro extracellular polysaccharide production by marine diatoms from the Adriatic Sea. J. Plankton Res. 21, 1681–1690.
- Penna, N., Rinaldi, A., Montanari, G., Di Paolo, A., Penna, A., 1993. Mucilaginous masses in the Adriatic Sea in the summer of 1989. Water Res. 27, 1767–1771.
- Peperzak, L., Gäbler-Schwarz, S., 2012. Current knowledge of the life cycles of *Phaeocystis globosa* and *Phaeocystis antarctica* (prymnesiophyceae). J. Phycol. 48, 514–517.
- Pilskaln, C.H., Villareal, T.A., Dennett, M., Darkangelo-Wood, C., Meadows, G., 2005. High concentrations of marine snow and diatom algal mats in the North Pacific Subtropical Gyre: implications for carbon and nitrogen cycles in the oligotrophic ocean. Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap. 52, 2315–2332.
- Pistocchi, R., Cangini, M., Totti, C., Urbani, R., Guerrini, F., Romagnoli, T., Sist, P., Palamidesi, S., Boni, L., Pompei, M., 2005. Relevance of the dinoflagellate *Gonyaulax fragilis* in mucilage formations of the Adriatic Sea. Sci. Total Environ. 353, 307–316.
- Pistocchi, R., Trigari, G., Serrazanetti, G.P., Taddei, P., Monti, G., Palamidesi, S., Guerrini, F., Bottura, G., Serratore, P., Fabbri, M., Pirini, M., Ventrella, V., Pagliarani, A., Boni, L., Borgatti, A.R., 2005. Chemical and biochemical parameters of cultured diatoms and bacteria from the Adriatic Sea as possible biomarkers of mucilage production. Sci. Total Environ. 353, 287–299.
- Pomeroy, L.R., 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. Bioscience 499–504.
- Pompei, M., Mazziotti, C., Guerrini, F., Cangini, M., Pigozzi, S., Benzi, M., Palamidesi, S., Boni, L., Pistocchi, R., 2003. Correlation between the presence of *Gonyaulax fragilis* (Dinophyceae) and the mucilage phenomena of the Emilia-Romagna coast (northern Adriatic Sea). Harmful Algae 2, 301–316.
- Precali, R., Giani, M., Marini, M., Grilli, F., Ferrari, C.R., Pečar, O., Paschini, E., 2005. Mucilaginous aggregates in the northern Adriatic in the period 1999–2002: Typology and distribution. Sci. Total Environ. 353, 10–23.
- Prieto, L., Sommer, F., Stibor, H., Koeve, W., 2001. Effects of planktonic copepods on transparent exopolymeric particles (TEP) abundance and size spectra. J. Plankton Res. 23, 515–525.
- Proctor, L.M., Fuhrman, J.A., 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria.
- Provini, A., Crosa, G., Marchetti, R., 1992. Nutrient export from the Po and Adige river basins over the last 20 years. Sci. Total Environ. 291–313.
- Puddu, A., Zoppini, A., Fazi, S., Rosati, M., Amalfitano, S., Magaletti, E., 2003. Bacterial uptake of DOM released from P-limited phytoplankton. FEMS Microbiol. Ecol. 46, 257–268.
- Pugnetti, A., Armeni, M., Camatti, E., Crevatin, E., Dell'Anno, A., Del Negro, P., Milandri, A., Socal, G., Umani, S.F., Danovaro, R., 2005. Imbalance between phytoplankton production and bacterial carbon demand in relation to mucilage formation in the Northern Adriatic Sea. Sci. Total Environ. 353, 162–177.
- Radić, T., Kraus, R., Fuks, D., Radić, J., Pečar, O., 2005. Transparent exopolymeric particles' distribution in the northern Adriatic and their relation to microphytoplankton biomass and

- composition. *Sci. Total Environ.* 353, 151–161.
- Rath, J., Wu, K.Y., Herndl, G.J., DeLong, E.F., 1998. High phylogenetic diversity in a marine-snow-associated bacterial assemblage. *Aquat. Microb. Ecol.* 14, 261–269.
- Revelante, N., Gilmartin, M., 1992. The lateral advection of particulate organic matter from the Po delta region during summer stratification, and its implications for the Northern Adriatic. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 35, 191–212.
- Richardson, A.J., Schoeman, D.S., 2004. Climate impact on plankton ecosystems in the Northeast Atlantic. *Science* 305, 1609–1612.
- Riebesell, U., 1991. Particle aggregation during a diatom bloom. 11. Biological aspects. *Mar Ecol Prog Ser* 69, 281–291.
- Riebesell, U., 1992. The formation of large marine snow and its sustained residence in surface waters. *Limnol. Oceanogr.* 63–76.
- Riebesell, U., Reigstad, M., Wassmann, P., Noji, T., Passow, U., 1995. On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii*(harriot): VI. Significance of *Phaeocystis*-derived mucus for vertical flux. *Neth. J. Sea Res.* 33, 193–203.
- Riley, J.S., Sanders, R., Marsay, C., Le Moigne, F. a. C., Achterberg, E.P., Poulton, A.J., 2012. The relative contribution of fast and slow sinking particles to ocean carbon export. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26
- Rinaldi, A., Vollenweider, R.A., Montanari, G., Ferrari, C.R., Ghetti, A., 1995. Mucilages in Italian seas: the Adriatic and Tyrrhenian seas, 1988–1991. *Sci. Total Environ.* 165, 165–183.
- Roden, C.M., 1984. The 1980/1981 phytoplankton cycle in the coastal waters off Connemara, Ireland. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 18, 485–497.
- Rousseau, V., Vaulot, D., Casotti, R., Cariou, V., Lenz, J., Gunkel, J., Baumann, M., 1994. The life cycle of *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae): evidence and hypotheses. *J. Mar. Syst.* 5, 23–39.
- Rozanski, K., Fowler, S.W., Scott, E.M., 1993. Global ocean studies, the greenhouse effect, and climate change: Investigating interconnections. *IAEA Bull.* 35, 25–32.
- Rusch, D.B., Halpern, A.L., Sutton, G., Heidelberg, K.B., Williamson, S., Yooseph, S., Wu, D., Eisen, J.A., Hoffman, J.M., Remington, K., 2007. The Sorcerer II global ocean sampling expedition: northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. *PLoS Biol.* 5, e77.
- Russo, A., Maccaferri, S., Djakovac, T., Precali, R., Degobbis, D., Deserti, M., Paschini, E., Lyons, D.M., 2005. Meteorological and oceanographic conditions in the northern Adriatic Sea during the period June 1999–July 2002: Influence on the mucilage phenomenon. *Sci. Total Environ.* 353, 24–38.
- Russo, A., Rabitti, S., Bastianini, M., 2002. Decadal climatic anomalies in the northern Adriatic Sea inferred from a new oceanographic data set. *Mar. Ecol.* 23, 340–351.
- Salehizadeh, H., Shojaosadati, S., 2001. Extracellular biopolymeric flocculants: Recent trends and biotechnological importance. *Biotechnol. Adv.* 19, 371–385.
- Sanders, R., Purdie, D.A., 1998. Bacterial Response to Blooms Dominated by Diatoms and *Emiliania huxleyi* in Nutrient-enriched Mesocosms. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 46, 35–48.
- Sartoni, G., Urbani, R., Sist, P., Berto, D., Nuccio, C., Giani, M., 2008. Benthic mucilaginous

- aggregates in the Mediterranean Sea: Origin, chemical composition and polysaccharide characterization. *Mar. Chem.* 111, 184–198.
- Sasamal, S.K., Panigrahy, R.C., Misra, S., 2005. Asterionella blooms in the northwestern Bay of Bengal during 2004. *Int. J. Remote Sens.* 26, 3853–3858.
- Schiaparelli, S., Castellano, M., Povero, P., Sartoni, G., Cattaneo-Vietti, R., 2007. A benthic mucilage event in North-Western Mediterranean Sea and its possible relationships with the summer 2003 European heatwave: short term effects on littoral rocky assemblages. *Mar. Ecol.* 28, 341–353.
- Schlüter, M.H., Kraberg, A., Wiltshire, K.H., 2012. Long-term changes in the seasonality of selected diatoms related to grazers and environmental conditions. *J. Sea Res.* 67, 91–97.
- Schoemann, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V., Lancelot, C., 2005. Phaeocystis blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: A review. *J. Sea Res.* 53, 43–66.
- Sellner, K.G., Fonda-Umani, S., 1999. Dinoflagellate blooms and mucilage production. *Coast. Estuar. Stud.* 173–206.
- Shanks and Jonathan, A.L., Trent, D., 1979. Marine snow: Microscale nutrient patched. *Limnol Ocean.* 24, 8504354.
- Shapiro, K., Miller, W.A., Silver, M.W., Odagiri, M., Largier, J.L., Conrad, P.A., Mazet, J.A., 2012. Research Commentary: Association of Zoonotic Pathogens with Fresh, Estuarine, and Marine Macroaggregates. *Microb. Ecol.* 1–6.
- Shapiro, K., Silver, M.W., Largier, J.L., Conrad, P.A., Mazetb, J.A.K., 2012. Association of *Toxoplasma gondii* oocysts with fresh, estuarine, and marine macroaggregates. *Limnol Ocean.* 57, 449–456.
- Shen, P., Qi, Y., Wang, Y., Huang, L., 2011. Phaeocystis globosa Scherffel, a harmful microalga, and its production of dimethylsulfiopropionate. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 29, 869–873.
- Shibata, A., Kogure, K., Koike, I., Ohwada, K., 1997. Formation of submicron colloidal particles from marine bacteria by viral infection. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 155, 303–307.
- Siegenthaler, U., Sarmiento, J.L., 1993. Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature* 365, 119–125.
- Silver, M.W., Gowing, M.M., 1991. The “particle” flux: origins and biological components. *Prog. Oceanogr.* 26, 75–113.
- SILVER, M.W., Shanks, A.L., Trent, J.D., 1978. Marine snow: microplankton habitat and source of small-scale patchiness in pelagic populations. *Science* 201, 371–373.
- Simon, M., Grossart, H.P., Schweitzer, B., Ploug, H., 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat. Microb. Ecol.* 28, 175–211.
- Smith, D.C., Steward, G.F., Long, R.A., Azam, F., 1995. Bacterial mediation of carbon fluxes during a diatom bloom in a mesocosm. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 42, 75–97.
- Smith, D.J., Underwood, G.J.C., 2001. The production of extracellular carbohydrates by estuarine benthic diatoms: the effects of growth phase and light and dark treatment. *J. Phycol.* 36, 321–333.
- Smyth, T.J., Tyrrell, T., Tarrant, B., 2004. Time series of coccolithophore activity in the Barents

- Sea, from twenty years of satellite imagery. *Geophys. Res. Lett.* 31.
- Solidoro, C., Bastianini, M., Bandelj, V., Codermatz, R., Cossarini, G., Melaku Canu, D., Ravagnan, E., Salon, S., Trevisani, S., 2009. Current state, scales of variability, and trends of biogeochemical properties in the northern Adriatic Sea. *J. Geophys. Res. Oceans* 1978–2012 114.
- Sonnenschein, E.C., Syit, D.A., Grossart, H.P., Ullrich, M.S., 2012. Chemotaxis of *Marinobacter adhaerens* and Its Impact on Attachment to the Diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 6900–6907.
- Staats, N., De Winder, B., Stal, L., Mur, L., 1999. Isolation and characterization of extracellular polysaccharides from the epipelagic diatoms *Cylindrotheca closterium* and *Navicula salinarum*. *Eur. J. Phycol.* 34, 161–169.
- Staats, N., Stal, L.J., Mur, L.R., 2000. Exopolysaccharide production by the epipelagic diatom *Cylindrotheca closterium*: effects of nutrient conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 249, 13–27.
- Stachowitsch, M., Fanuko, N., Richter, M., 1990. Mucus aggregates in the Adriatic Sea: an overview of stages and occurrences. *Mar. Ecol.* 11, 327–350.
- Sterner, R.W., Hessen, D.O., 1994. Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1–29.
- Strmecki, S., Plavsic, M., Steigenberger, S., Passow, U., 2010. Characterization of phytoplankton exudates and carbohydrates in relation to their complexation of copper, cadmium and iron. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 408, 33–46.
- Sundh, I., 1989. Characterization of phytoplankton extracellular products (PDOC) and their subsequent uptake by heterotrophic organisms in a mesotrophic forest lake. *J. Plankton Res.* 11, 463–486.
- Supić, N., Orlić, M., Degobbis, D., 2000. Istrian Coastal Countercurrent and its year-to-year variability. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 51, 385–397.
- Surosz, S., K.a, P., A, R., 2006. Production of transparent exopolymer particles (TEP) in the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* OL-K10. *Oceanologia* 48.
- Suttle, C.A., Chan, A.M., Cottrell, M.T., others, 1990. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature* 347, 467–469.
- Svetličić, V., Zutić, V., ZIMMERMANN, A.H., 2005. Biophysical scenario of giant gel formation in the Northern Adriatic Sea. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1048, 524–527.
- Svetlicic, V., Zutic, V., Radic, T.M., Pletikapic, G., Zimmermann, A.H., Urbani, R., 2011. Polymer Networks Produced by Marine Diatoms in the Northern Adriatic Sea. *Mar. Drugs* 9, 666–679.
- Tamburini, C., Boutrif, M., Garel, M., Colwell, R.R., Deming, J.W., 2013. Prokaryotic responses to hydrostatic pressure in the ocean – a review. *Environ. Microbiol.* 15, 1262–1274.
- Tang, K.W., 2003. Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal. *J. Plankton Res.* 25, 831–842.
- Tang, K.W., Grossart, H.-P., Yam, E.M., Jackson, G.A., Ducklow, H.W., Kiørboe, T., 2006. Mesocosm study of particle dynamics and control of particle-associated bacteria by flagellate grazing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 325, 15–27.

- Taylor, F.J.R., Hoppenrath, M., Saldarriaga, J.F., 2008. Dinoflagellate diversity and distribution. *Biodivers. Conserv.* 17, 407–418.
- Tinti, F., Boni, L., Pistocchi, R., Riccardi, M., Guerrini, F., 2007. Species-specific probe, based on 18S rDNA sequence, could be used for identification of the mucilage producer microalga *Gonyaulax fragilis* (Dinophyta), in: *Hydrobiologia*. Presented at the European Marine Biology Symposium, Springer, pp. 259–263.
- Tiselius, P., Mitchell-Innes, B., Visser, A.W., Mari, X., 1998. Intensive aggregate formation with low vertical flux during an upwelling-induced diatom bloom. *Limnol Ocean.* 43, 104–116.
- Totti, C., Cangini, M., Ferrari, C., Kraus, R., Pompei, M., Pugnetti, A., Romagnoli, T., Vanucci, S., Socal, G., 2005. Phytoplankton size-distribution and community structure in relation to mucilage occurrence in the northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 204–217.
- Trent, J.D., Shanks, A.L., Silver, M.W., 1978. In situ and laboratory measurements on macroscopic aggregates in Monterey Bay, California. *Limnol Ocean.* 23, 626–635.
- Tüfekçi, V., Balkıs, N., Polat-Beken, Ç., Ediger, D., Mantıkçı, M., 2010. Phytoplankton composition and environmental conditions of a mucilage event in the Sea of Marmara. *Turk. J. Biol.* 34.
- Turk, V., Hagström, Å, Kovač, N., Faganeli, J., 2010. Composition and function of mucilage macroaggregates in the northern Adriatic. *Aquat. Microb. Ecol.* 61, 279–289.
- Turley, C.M., Bianchi, M., Christaki, U., Conan, P., Harris, J.R.W., Psarra, S., Ruddy, G., Stutt, E.D., Tselepidis, A., Van Wambeke, F., 2000. Relationship between primary producers and bacteria in an oligotrophic sea-the Mediterranean and biogeochemical implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 193, 11–18.
- Umami, S.F., Del Negro, P., Larato, C., De Vittor, C., Cabrini, M., Celio, M., Falconi, C., Tamberlich, F., Azam, F., 2006. Major inter-annual variations in microbial dynamics in the Gulf of Trieste(northern Adriatic Sea) and their ecosystem implications. *Aquat. Microb. Ecol.* 46, 163–175.
- Urbani, R., Magaletti, E., Sist, P., Cicero, A.M., 2005. Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: Effect of P-depletion and growth status. *Sci. Total Environ.* 353, 300–306.
- Vallina, S.M., Simó, R., 2007. Strong relationship between DMS and the solar radiation dose over the global surface ocean. *Science* 315, 506–508.
- Van Rijssel, M., Janse, I., Noordkamp, D.J.B., Gieskes, W.W.C., 2000. An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. *J. Sea Res.* 43, 297–306.
- Videau, C., Ryckaert, M., L'helguen, S., 1998. Phytoplankton en baie de Seine. Influence du panache fluvial sur la production primaire. *Oceanol. Acta* 21, 907–921.
- Viviani, R., Boni, L., Cattani, O., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M., Sansoni, G., 1995. ASP, DSP, NSP and PSP monitoring in “mucilaginous aggregates” and in mussels in a coastal area of the Northern Adriatic Sea facing Emilia-Romagna in 1988, 1989 and 1991. *Sci. Total Environ.* 165, 203–211.
- Wassmann, P., 1994. Significance of sedimentation for the termination of *Phaeocystis* blooms. *J. Mar. Syst.* 5, 81–100.

- Watt, W.D., 1969. Extracellular Release of Organic Matter from Two Freshwater Diatoms. *Ann. Bot.* 33, 427–437.
- Weinbauer, M.G., Bettarel, Y., Cattaneo, R., Luef, B., Maier, C., Motegi, C., Peduzzi, P., Mari, X., 2009. Viral ecology of organic and inorganic particles in aquatic systems: avenues for further research. *Aquat. Microb. Ecol.* 57, 321.
- Wilhelm, S.W., Suttle, C.A., 1999. Viruses and nutrient cycles in the sea. *Bioscience* 49, 781–788.
- Wolfstein, K., De Brouwer, J.F.C., Stal, L.J., 2002. Biochemical partitioning of photosynthetically fixed carbon by benthic diatoms during short-term incubations at different irradiances. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 245, 21–31.
- Wolfstein, K., Stal, L.J., 2002. Production of extracellular polymeric substances (EPS) by benthic diatoms: effect of irradiance and temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 236, 13–22.
- Wright, S.W., Thomas, D.P., Marchant, H.J., Higgins, H.W., Mackey, M.D., Mackey, D.J., 1996. Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: Comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the 'CHEMTAX' matrix factorisation program. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Oldendorf 14, 285–298.
- Zanchettin, D., Traverso, P., Tomasino, M., 2008. Po River discharges: a preliminary analysis of a 200-year time series. *Clim. Change* 89, 411–433.
- Zimov, S.A., Schuur, E.A., Chapin III, F.S., 2006. Permafrost and the global carbon budget. *Science(Washington)* 312, 1612–1613.
- Zoppini, A., Puddu, A., Fazi, S., Rosati, M., Sist, P., 2005. Extracellular enzyme activity and dynamics of bacterial community in mucilaginous aggregates of the northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 270–286.

Annexes

Appendix I: Non exhaustive list of diatoms producing EPS

Diatoms	Genus/species	Reference
	<i>Amphora coffeaformis</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Amphora coarctata</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Amphora exigua</i>	Underwood et al., 2004
	<i>Amphora spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Bellerochaea sp.</i>	Wetz and Wheeler, 2007
	<i>Chaetoceros affinis</i>	Myklestad, 1974
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Corzo et al., 2000
	<i>Chaetoceros curvisetus</i>	Myklestad, 1974
	<i>Chaetoceros debilis</i>	Myklestad, 1974
	<i>Chaetoceros decipiens</i>	Myklestad, 1974
	<i>Chaetoceros neogracile</i>	Passow and Alldredge, 1994
	<i>Chaetoceros socialis</i>	Myklestad, 1974
	<i>Chaetoceros sp.</i>	Passow, 2002
	<i>Cocconeis sp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Corethron hystrix</i>	Myklestad, 1974
	<i>Coscinodiscus granii</i>	Fukao et al., 2009
	<i>Coscinodiscus nobilis</i>	Percial et al., 1980
	<i>Coscinodiscus sp.</i>	Kiorboe and Hansen, 1993
	<i>Cylindrotheca closterium</i>	Mingazzini et al., 1995
	<i>Cylindrotheca fusiformis</i>	Magaletti et al., 2004
	<i>Fragilaria spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Grammatophora spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Mastogloia spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Licmophora spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Melosira numuloides</i>	Passow 2002
	<i>Navicula perminuta</i>	Smith and Underwood, 1998
	<i>Navicula salinarum</i>	Staats et al., 1999
	<i>Navicula subinflata</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Navicula sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Nitzschia angularis</i>	Passow and Alldredge, 1994
	<i>Nitzschia frustulum</i>	Allan et al., 1972
	<i>Nitzschia seriata</i>	Innamorati, 1995
	<i>Nitzschia sigma</i>	Smith and Underwood, 1998
	<i>Nitzschia sp.</i>	Passow, 2002
	<i>Oontella longicurvis</i>	Wetz and Wheeler, 2007
	<i>Plagiogramma spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Pseudo-Nitzschia fraudulentula</i>	Claquin et al., 2008
	<i>Pseudo-Nitzschia sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Rhodotorula acheniorum</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Skeletonema costatum</i>	Myklestad, 1974
	<i>Skeletonema marinoi</i>	Claquin et al., 2008
	<i>Stephanopyxis turris</i>	Passow, 2002
	<i>Synedra spp.</i>	Innamorati, 1995
	<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	Myklestad, 1974
	<i>Thalassiosira gravida</i>	Myklestad, 1974
	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Urbani et al., 2005
	<i>Thalassiosira rotula</i>	Passow, 2002
	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	Passow, 2002
	<i>Tropidoneis spp.</i>	Innamorati, 1995

Appendix 2: Non-exhaustive list of dinoflagellates, *Cryptophyceae* and *Prymnesiophyceae* producing EPS

Dinoflagellates	Genus/species	Reference
	<i>Dinophysis</i> sp.	Innamorati, 1995
	<i>Gonyaulax fragilis</i>	Pompei et al., 2001
	<i>Gonyaulax hyalina</i>	Pompei et al., 2001
	<i>Gonyaulax polyedra</i>	Passow, 2002
	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>	Claquin et al., 2008
	<i>Mesoporos</i> sp.	Innamorati, 1995
	<i>Prorocentrum micans</i>	Pompei et al., 2001
	<i>Prorocentrum</i> sp.	Innamorati, 1995
	<i>Protoperidinium</i> sp.	Innamorati, 1995
	<i>Thecate dinoflagellates</i> sp.	Innamorati, 1995
Cryptophyceae	<i>Rhodomonas baltica</i>	Kiorboe and Hansen, 1993
Prymnesiophyceae	<i>Emiliana huxleyi</i>	Passow, 2002
	<i>Phaeocystis antartica</i>	Hong et al., 1997
	<i>Phaeocystis pouchetii</i>	Lancelot, 1984
	<i>Phaeocystis</i> sp.	Bidanda and Benner, 1997
	<i>Isochrysis galbana</i>	Claquin et al., 2008

Appendix 3: Non-exhaustive list of bacteria producing EPS

Bacteria	Genus/species	Reference
	<i>Acetobacter infernos</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Acetobacter macleodii</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Achromobacter</i> sp.	Starr and Schmidt, 1982
	<i>Alcalignes</i> sp.	Starr and Schmidt, 1983
	<i>Halebacter eurihalina</i>	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Marinobacter</i> sp.	Bashkar and Bhosle, 2005
	<i>Pseudomonas</i> sp.	Starr and Schmidt, 1981
	<i>Vibrio</i> sp.	Bashkar and Bhosle, 2005

Appendix 4: Non-exhaustive list of cyanobacteria producing EPS

Cyanobacteria	Genus/species	Reference
	<i>Anabaena cylindrica</i>	De Philippis, 1998
	<i>Anabaena flos-aquae</i>	De Philippis, 1998
	<i>Anabaena sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Anacystis nidulans</i>	De Philippis, 1998
	<i>Aphanocapsa halophytica</i>	De Philippis, 1998
	<i>Chroococcus minutus</i>	De Philippis, 1998
	<i>Cyanospira capsulata</i>	De Philippis, 1998
	<i>Cyanothece sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Glaeocapsa sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Gloeotheca sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Leptolyngbya sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Lyngbya confervoides</i>	De Philippis, 1998
	<i>Lyngbya sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Mastigocladus laminosus</i>	De Philippis, 1998
	<i>Microcoleus sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	De Philippis, 1998
	<i>Microcystisflos aquae</i>	De Philippis, 1998
	<i>Nostoc calcicola</i>	De Philippis, 1998
	<i>Nostoc carneum</i>	Parikh et al., 2006
	<i>Nostoc commune</i>	De Philippis, 1998
	<i>Nostoc insulare</i>	De Philippis, 1998
	<i>Nostoc linckia f. muscorum</i>	De Philippis, 1998
	<i>Oscillatoria amphibia</i>	De Philippis, 1998
	<i>Oscillatoria corallinae</i>	De Philippis, 1998
	<i>Oscillatoria sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Phormidium ectocarpi</i>	De Philippis, 1998
	<i>Phormidium foveolarum</i>	De Philippis, 1998
	<i>Phormidium minutum</i>	De Philippis, 1998
	<i>Phormidium sp.</i>	De Philippis, 1998
	<i>Rivularia sp.</i>	De Philippis, 2002
	<i>Spirulina platensis</i>	De Philippis, 1998
	<i>Synechococcus bacillaria</i>	Bidanda and Benner, 1997
	<i>Synechocystis sp.</i>	De Philippis, 1998

2.2.3. Conclusions

Les MPM sont des phénomènes d'agrégats marins observables dans les régions côtières du monde entier. Présents dans la mer Adriatique depuis au moins 1729, l'apparition des MPM s'est accélérée dans les années 1990s dans les autres mers de Méditerranée et dans le reste du monde. En effet, les MPM apparaissent aussi dans la mer de Tasmanie, le long de la côte de l'océan Pacifique aux États-Unis, dans le Golfe du Mexique, dans la mer du Nord, dans la mer Ariake au sud du Japon et dans notre zone d'étude. L'apparition des MPM est dirigée par des conditions climatiques favorisant son apparition. En effet, sa formation nécessite qu'il y ait eu au préalable de forts débits d'un fleuve proche de la zone impactée, et que les conditions météorologiques soient calmes (peu de vent et peu de houle, et peu de débit du fleuve avoisinant au moment de la formation). Il faut aussi de bonnes

conditions permettant la production primaire, c'est à dire une faible turbidité et une forte irradiation. Il a également été remarqué que les MPM avaient tendance à se former lorsque les températures de l'eau et de l'air augmentaient.

Les MPM sont constitués d'une matrice polysaccharidique de TEP, s'organisant en réseaux complexes dans lesquels s'agrègent du bactérioplancton, du phytoplancton et du zooplancton. Les principales observations sur les communautés microbiennes réalisées dans les études passées sur le MPM se sont concentrées principalement sur la caractérisation du phytoplancton par des techniques de microscopie optique. Les espèces phytoplanctoniques les plus abondantes observées dans les MPM sont les diatomées et les dinoflagellés, et parfois les cyanobactéries. Ces espèces sont en général celles qui sont habituellement observées dans l'eau de mer où les MPM se forment. Quelques études se sont également attachées à la caractérisation du bactérioplancton et on montré que les communautés bactériennes des MPM sont différentes de celles de l'eau de mer au niveau de leur abondance, de leur diversité spécifique et de leur diversité fonctionnelle. Concernant le zooplancton, il semblerait que celui-ci s'agrège sur les MPM pour se nourrir de leurs proies qui y sont présentes en abondance.

3. Le mucilage marin du Golfe de Gascogne : le Liga

3.1. Le Golfe de Gascogne

Le golfe de Gascogne est situé entre 43,5 ° et 48.5 ° N et entre 3 ° et 8 ° W. D'une superficie de 223 000 km², le Golfe de Gascogne constitue le plateau continental de la partie est de l'océan Atlantique, bordant la côte ouest de la France et la côte nord de l'Espagne. Il est caractérisé par des eaux généralement peu profondes, à l'exception du Gouf de Cap Breton.

Le sud du Golfe de Gascogne affronte régulièrement de fortes houles, surtout en hiver. Cette houle se forme à l'origine au nord de l'océan Atlantique et vient s'échouer ensuite sur la côte. La zone de l'estuaire de l'Adour est une des zones du Golfe de Gascogne parmi les plus impactées par ces fortes houles. La température

de surface de la mer présente une forte saisonnalité liée aux températures atmosphériques. La majorité des nutriments d'origine continentale arrivent de l'Adour qui est le fleuve présentant les débits les plus importants du secteur (Valencia et al., 2004).

L'état écologique du sud du Golfe de Gascogne est considéré comme mauvais à cause de la présence de nombreuses stations balnéaires, de l'eutrophisation, de la turbidité excessive qui empêche la lumière de pénétrer jusqu'au fond de l'eau, de la surpêche, du chalutage, et des pollutions chroniques dues au passage fréquent de bateaux en direction du port de Bayonne. De plus, une étude de l'Ifremer a montré que cette zone était l'une des plus impactées par la présence de débris dans l'eau de mer, notamment de déchets plastiques (Galgani et al., 1995).

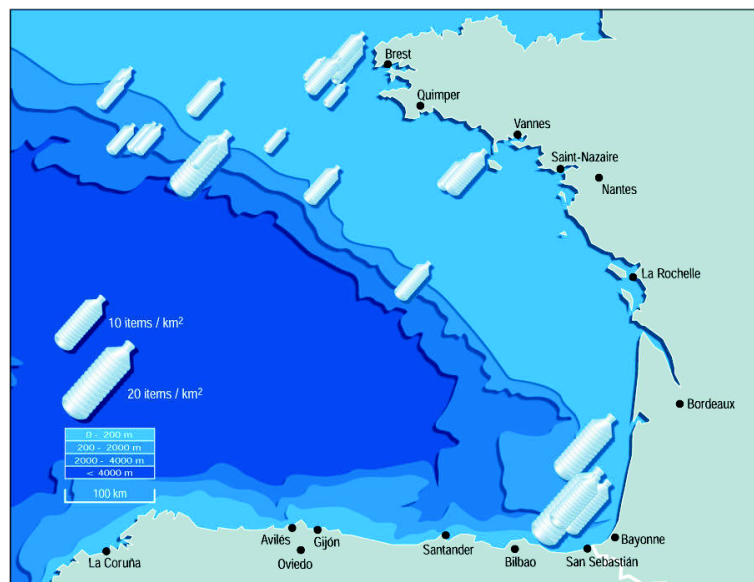


Figure I.9 : Pollution des eaux du Golfe de Gascogne. Adaptée de Galgani et al. (1995).

Les blooms de phytoplancton dans le sud du Golfe de Gascogne ont lieu du printemps à l'automne (figure I.10). Les blooms de printemps sont en général dominés par les diatomées alors que les blooms plus tardifs sont dominés par des dinoflagellés (Garcia-Martinez and Rodriguez-Valera, 2000; Varela, 1996). En ce qui concerne l'écologie du bactérioplancton, peu d'informations sont disponibles sur cette région.

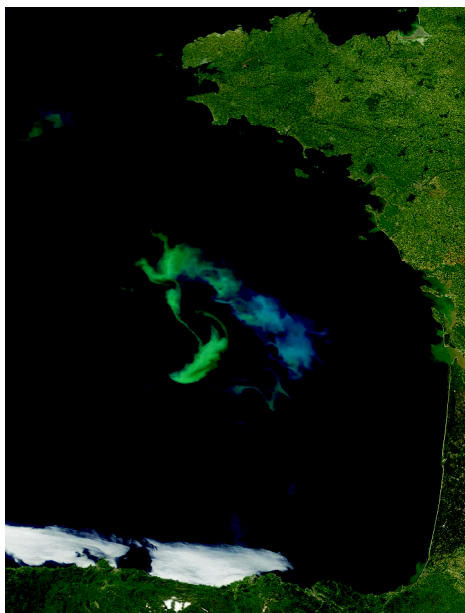


Figure I.10 : Bloom phytoplanctonique dans le Golfe de Gascogne. Photographie du satellite Terra (EOS AM-1).

3.2. Le Liga

Le Liga est un phénomène apparaissant dans le sud du Golfe de Gascogne depuis quelques années. Ce Liga ressemble beaucoup aux MPM décrits dans la littérature (cf. § 2.2). Notamment, les études préliminaires sur ce composé ont montré qu'il était riche en matière organique, et en microorganismes divers d'origine continentale et marine (pélagique et benthique). D'abord sporadiques, ses apparitions deviennent aujourd'hui de plus en plus fréquentes et de plus en plus abondantes. Le Liga apparaît proche des côtes, entre deux eaux, proche de l'estuaire de l'Adour. A l'heure actuelle ce phénomène apparaît chaque année au large des côtes de Biarritz, au printemps et en automne (figure I.11).

Des résultats de l'IMA et de l'Ifremer de 2010 ont montré qu'il y avait une production phytoplanctonique estivale anormale dans la zone d'apparition du Liga (Suspérregui et al., 2012). Il est donc possible que des dérèglements dans l'équilibre des communautés phytoplanctoniques aient entraîné la formation de ce phénomène.

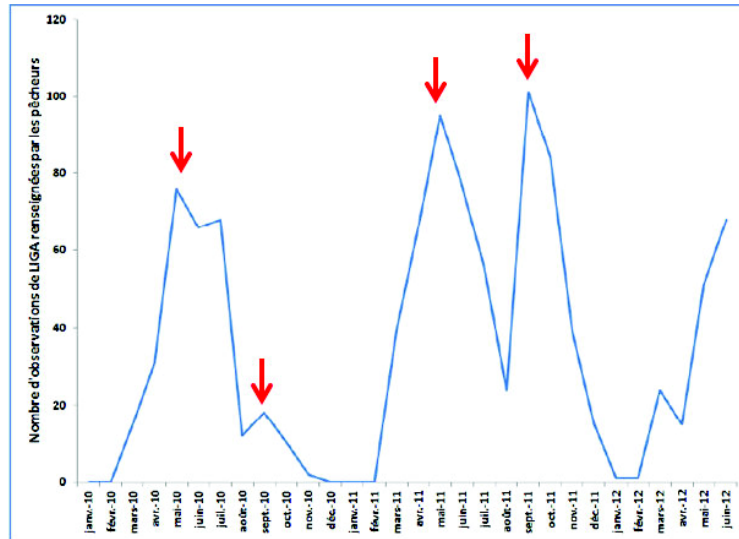


Figure I.11 : Relevé d'apparition de Liga de le sud du Golfe de Gascogne entre 2010 et 2012. Les observations de Liga ont été relevées par des pêcheurs. Les flèches représentent les pics d'apparition printaniers et automnaux pendant les années 2010 et 2011. Adapté de Suspérregui et al. (2012).

- Chapitre II -

Matériel et méthodes

1. Prélèvements et prétraitement des échantillons

1.1 Sites de prélèvements

Les stations de prélèvement ont été définies suite à l'étude sur le Liga de 2010 à 2012 réalisée par l'Institut des Milieux Aquatiques (IMA, Suspérregui et al 2012, cf. § I.3). Trois stations d'intérêt ont été retenues (figure II.1) :

- La station « *Adour* » qui se situe en amont de la ville de Bayonne (coordonnées GPS : 43° 30' 076 N, 1° 17' 522 W). Ce point a pour but d'étudier l'influence des apports de l'Adour sur les communautés microbiennes marines.

- La station « *Biarritz* » qui se situe au large des côtes de la ville de Biarritz (coordonnées GPS : 43° 29' 211 N, 1° 36' 095 W). D'après les enquêtes menées auprès des pêcheurs, il semble que ce point était le plus fortement impacté par la présence de Liga. Cette zone est également sous l'influence du panache de l'Adour.

- La station « *Tarnos* » qui se situe au large des côtes de la ville de Tarnos (coordonnées GPS : 43° 33' 445 N, 1° 36' 095 W). D'après les enquêtes menées auprès des pêcheurs, il semble que ce point était faiblement impacté par la présence de Liga. Cette zone est plus faiblement impactée par les apports de l'Adour.



Figure II.1 : Carte des stations de prélèvement.

1.2. Méthodes de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués de Juin 2013 à Juin 2014 selon deux pas de temps : des prélèvements mensuels et prélèvements intensifs.

Les prélèvements mensuels ont permis de suivre l'évolution des communautés microbiennes de l'eau de mer et de l'eau de l'Adour sur un an. Pour cela, les trois stations « Adour », « Biarritz » et « Tarnos » ont été prélevées une fois par mois lorsque les conditions météorologiques permettaient une navigation en mer avec le navire affrété pour les prélèvements. En Janvier et Février 2014, les deux stations marines n'ont pas pu être prélevées et seuls les prélèvements d'eau de l'Adour ont été effectués pour ces deux mois.

Les prélèvements intensifs ont concerné uniquement la station « Biarritz » pendant les périodes d'apparition du Liga. Ces prélèvements ont été réalisés idéalement à quelques jours d'intervalle, aux moments de l'apparition du Liga (en fonction des conditions météorologiques permettant les sorties en mer). La station « Adour » a été prélevée une fois avant chaque série de prélèvements intensifs. Les prélèvements mensuels ont été mis en place en essayant au maximum de respecter les conditions suivantes :

- Le prélèvement dans l'Adour a été réalisé un ou deux jours avant les prélèvements en mer, à marée basse, environ 15 km en amont de l'estuaire. Le but est de connaître les apports biotiques et abiotiques pouvant influencer sur les communautés microbiennes marines sans avoir l'influence de l'eau de mer qui s'engouffre dans l'estuaire à marée haute.
- Les stations « *Biarritz* » et « *Tarnos* » ont été prélevées le même jour pour étudier l'évolution spatiale des communautés microbiennes en supprimant la dimension temporelle.
- Le prélèvement à « *Biarritz* » a été réalisé à l'heure de la pleine mer pour minimiser l'impact dû au flux de l'Adour.
- Le prélèvement à « *Tarnos* » a été réalisé 2 heures après l'heure de la pleine mer. Ce laps de temps de 2h correspond au temps nécessaire pour réaliser les prélèvements sur le site de Biarritz et l'acheminement sur le site de Tarnos.
- Les prélèvements en mer ont été faits à coefficient de marée « moyen » pour minimiser les effets de la marée sur la stratégie de prélèvement.
- Les prélèvements ont été filtrés le jour même pour conserver les communautés microbiennes dans un état proche de l'état *in situ*.
- Le prélèvement mensuel a été programmé aux alentours du 15 de chaque mois.

Les prélèvements intensifs étaient initialement prévus pour les mois de Septembre et Octobre 2013 et Mars et Avril 2014. Les conditions en mer ne nous permettant pas de réaliser les sorties programmées, la période de prélèvements intensifs printanière de 2014 a été prolongée jusqu'en Mai. De plus, des conditions climatiques particulières du mois de Juin 2013 et favorables à l'apparition du Liga ont nécessité la mise en place d'une demi-session de prélèvements intensifs comprenant, 1 prélèvement « *Adour* », sachant que l'Adour était alors en crue, et 4 prélèvements à Biarritz espacés de 2 à 4 jours. Au total 208 échantillons ont été collectés sur la période de Juin 2013 à Juin 2014 (figure II.2 et tableau S1).

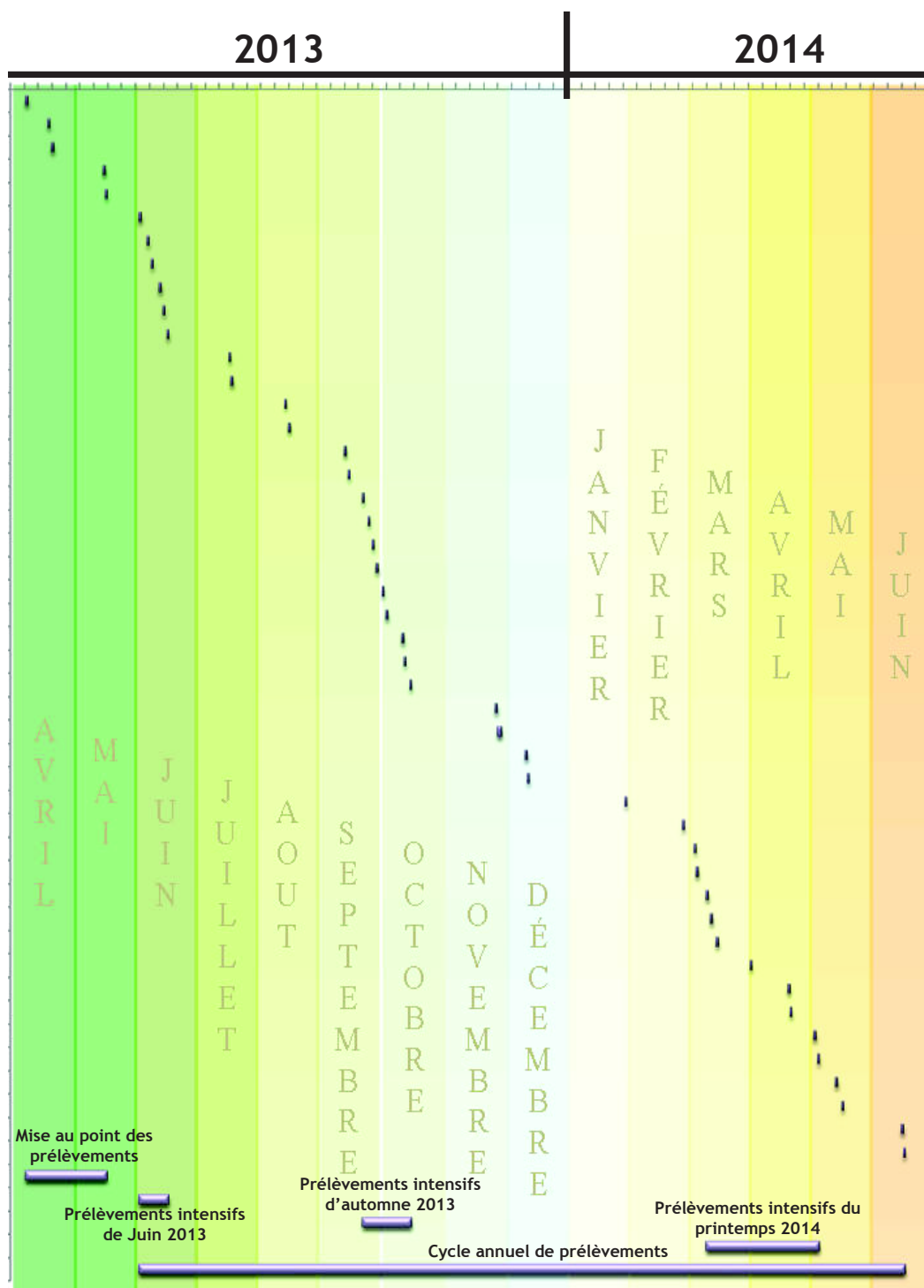


Figure II.2 : Diagramme de Gantt de la campagne de prélèvements réalisée en mer et dans l'Adour. Chaque petit rectangle gris correspond à une journée de prélèvement.

1.2.1. Prélèvement de l'eau de mer et de l'eau de l'Adour

Les contenants utilisés pour les prélèvements des échantillons ont été stérilisés par autoclavage avant chaque utilisation. Les prélèvements d'eau de mer et d'eau de

l'Adour ont été réalisés à l'aide d'une bouteille Niskin. Celle-ci a été lestée par une sonde CTD qui mesure en direct la salinité, la température et la concentration en chlorophylle *a* de l'eau de mer. Tous les prélèvements ont été effectués en triplicats et environ huit litres d'eau ont été prélevés à chaque fois. Les prélèvements dans l'Adour ont été réalisés uniquement en sub-surface (à -1m). Sur les deux stations en mer les prélèvements ont été réalisés à trois profondeurs différentes dans la colonne d'eau :

- au niveau de la couche correspondant à la profondeur à laquelle la chlorophylle *a* est à son maximum (PMCa). Cette concentration a été déterminée grâce à la sonde CTD en établissant un profil vertical le long de la colonne d'eau jusqu'à un mètre au dessus du sédiment. Ce point, qui se situe souvent à la pycnocline lorsqu'elle est formée, correspond à la profondeur où le Liga a été le plus souvent observé. Il se situe entre 3 et 12 mètres de profondeur selon les saisons. Ce prélèvement est réalisé dans le but de comparer les communautés microbiennes présentes dans le Liga à celle de la colonne d'eau à une même profondeur.

- en sub-surface (à -1 m). Les eaux de surface de Biarritz sont régulièrement et fortement impactées par le panache de l'Adour alors que les eaux de surface de Tarnos le sont beaucoup moins. Ce prélèvement est réalisé dans le but d'étudier l'influence des communautés microbiennes de surface sur les communautés microbiennes présentes à la PMCa et dans le Liga. De même, ces prélèvements devraient permettre d'étudier l'influence des apports de l'Adour dans la mer.

- à deux mètres au dessus du sédiment (entre 20 et 26 mètres de profondeur, la profondeur de l'eau a été estimée à l'aide d'un détecteur acoustique). Ce prélèvement est réalisé dans le but d'étudier l'influence des communautés microbiennes benthiques sur les communautés microbiennes présentes à la PMCa et dans le Liga.

Une fois prélevés, les échantillons d'eau ont été conservés dans une glacière sur le bateau jusqu'à ce qu'ils soient filtrés.

1.2.2. Prélèvement de Liga

Le Liga a été prélevé grâce à un filet à plancton de taille de maille égale à 200µm. Pour cela, nous avons réalisé un trait oblique de deux minutes aux deux stations de

prélèvement en mer, au niveau de la PMCa. Lorsque le Liga était présent, un volume d'environ 500 ml à 1 litre a été récupéré dans le réservoir du filet à plancton. Les échantillons de Liga ont été conservés dans une glacière sur le bateau jusqu'à ce qu'ils soient filtrés.

1.3. Traitements des prélèvements d'eau de l'Adour, d'eau de mer et de Liga

De retour sur le ponton, les échantillons ont été acheminés sur le site du campus universitaire de Montaury à Anglet où ils ont été filtrés immédiatement sur une rampe de filtration contenant trois tulipes. Chaque réplikat a toujours été filtré avec la même tulipe : réplikat 1 sur la tulipe 1, réplikat 2 sur la tulipe 2 et réplikat 3 sur la tulipe 3. Après filtration, les échantillons ont été placés dans des cryotubes et congelés dans un voyageur d'azote jusqu'à leur retour à Pau, dans la même journée, où ils ont été congelés à -80°C.

1.3.1. Collecte des microorganismes de l'eau de mer et de l'eau de l'Adour

Les filtrations des échantillons d'eau de mer et d'eau de l'Adour ont été effectuées sur des filtres en nitrate de cellulose de porosité 0,2µm (Sartorius stedim Biotech GmbH). Cette petite porosité de 0,2 µm permet de retenir les bactéries, les archées et les eucaryotes. Concernant les échantillons d'eau de mer, six litres de chaque prélèvement ont été filtrés en trois réplikats de deux litres chacun. Un volume plus petit a été filtré lorsque le filtre était saturé (le minimum étant de 950 ml pour les échantillons d'eau de mer). Concernant les échantillons d'Adour le volume filtré est compris entre 150 ml et 700 ml, correspondant au volume pour lequel le filtre a été saturé.

1.3.2. Collecte des différentes fractions du Liga

Lorsque du Liga a été prélevé, les échantillons ont subi une filtration séquentielle en trois étapes (figure II.3). Ces filtrations avaient pour but de séparer le Liga en différentes fractions : une fraction agrégée, une fraction semi-agrégée et une fraction non-agrégée.

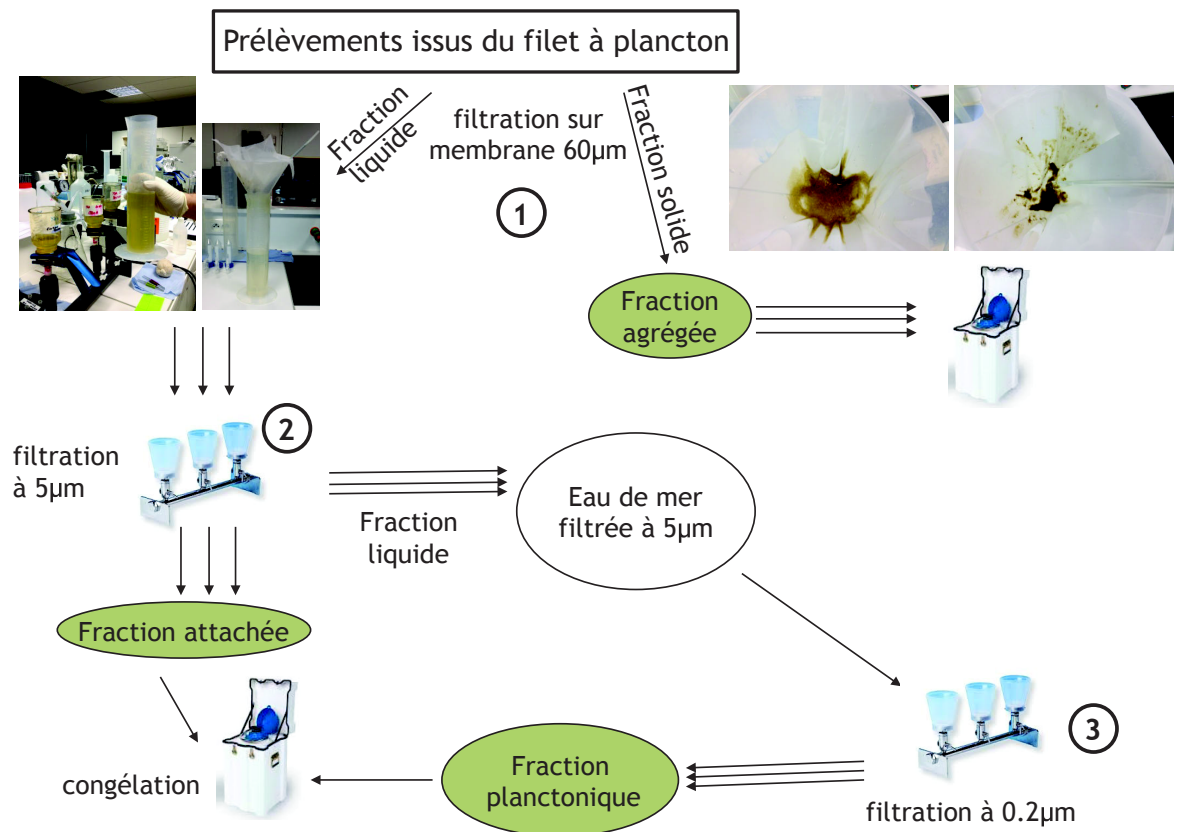


Figure II.3 : Filtration séquentielle du Liga.

La fraction agrégée du Liga a été obtenue après filtration sur une membrane de nylon de porosité 60 µm (NITEX). Il s'agit de la partie solide qui est restée piégée dans la membrane de nylon. Cette fraction contient toutes les cellules procaryotes et eucaryotes piégées dans la matrice du Liga et le zooplancton. Cette fraction a été mélangée à l'aide d'une spatule jetable stérile et collectée en deux lots de triplicats. Le filtrat issu de cette première filtration a ensuite été filtré sur un filtre de nitrate de cellulose de porosité 5 µm (Merck Millipore Ltd). La fraction retenue sur le filtre constitue la **fraction attachée du Liga** (attachée, pour attachée à des particules). Cette fraction contient également le microplancton planctonique et le grand

nanoplancton planctonique qui ont une taille supérieure à 5 μm (Cermeno et al., 2006). Le filtrat résultant de la filtration sur filtre de 5 μm a ensuite été filtré sur un filtre en nitrate de cellulose de porosité 0,2 μm (même filtre que pour l'eau de mer et l'eau de l'Adour, Sartorius stedim Biotech GmbH). Ce filtre contient toutes les cellules eucaryotes et procaryotes planctoniques ou liées à de très petites particules. C'est la **fraction planctonique du Liga**.

Tableau II.1 : Bilan des différents échantillons collectés sur la campagne de prélèvement. Les échantillons sont récoltés en triplicats. Ainsi, le nombre des échantillons à traiter est le triple de chaque valeur indiquée dans les cases. Les échantillons récoltés lors de la mise au point n'ont pas été analysés. Ils ont servi uniquement à tester les différentes étapes d'expériences de T-RFLP. Les échantillons d'eau de mer sont indiqués pour les 3 profondeurs de prélèvement et les échantillons de Liga sont indiqués pour les 3 fractions

Type de prélèvement	Mise au point	Mensuels	Intensifs supplémentaires du mois de Juin 2013	Intensifs d'automne 2013	Intensifs du printemps 2014
Nombre d'échantillon par type de	Adour/Biarritz/Tarnos	Adour : 13 Biarritz : 57 Tarnos : 45 dont 18 Liga de Biarritz et 18 Liga de Tarnos	Adour : 1 Biarritz : 16 dont 7 Liga	Adour : 0 Biarritz : 39 dont 18 Liga	Adour : 1 Biarritz : 36 dont 18 Liga
Nombre total d'échantillons	9	115	17	39	37
Nombre total de prélèvements	217				
Nombre total d'échantillons à analyser	-	208			

1.4. Collecte des données environnementales

Deux types de variables seront considérées dans cette étude : les variables climatiques extraites des bases de données météorologiques, et les variables environnementales propres à chaque type de prélèvement.

Les variables climatiques sont identiques pour toutes les stations de prélèvement et permettront un suivi temporel de l'environnement des microorganismes étudiés (Tableau S2). Cette base de données a été réalisée par l'Institut des Milieux Aquatiques (IMA). Les variables environnementales sont des paramètres physico-chimiques mesurés dans chaque station de prélèvement et à chaque profondeur (Tableau S3). Elles permettront un suivi spatial et temporel de l'environnement des microorganismes étudiés.

2. Analyse des communautés microbiennes par des méthodes de biologie moléculaire

Les approches les plus exhaustives pour caractériser les écosystèmes microbiens font appel à la biologie moléculaire. En effet, les méthodes de microbiologie classique telles que la culture sur milieu sélectif ou les tests biochimiques et les profils d'activité métabolique ne permettent d'étudier que les microorganismes cultivables. Or de nos jours, nous sommes capables de cultiver en moyenne seulement 1% des microorganismes, parfois même moins de 0,1% lorsque les microorganismes viennent de certains milieux comme par exemple les bactéries marines (Staley and Konopka, 1985).

Dans cette étude, les gènes codant pour l'ARNr 16S procaryote (pour les bactéries et les archées) et ARNr 18S pour les eucaryotes ont été ciblés pour révéler la biodiversité microbienne spécifique des différents compartiments. Ces gènes sont universels dans le monde vivant. Très étudiés ils sont très bien référencés dans les bases de données.

Deux approches nous ont permis de caractériser les communautés microbiennes présentes dans les échantillons :

- une technique d'empreintes moléculaires, la T-RFLP, permettant d'obtenir des empreintes moléculaires pour chaque échantillon.
- une technique de séquençage à haut débit, le séquençage MiSeq, pour déterminer plus précisément l'identité des espèces qui composent les communautés microbiennes de l'eau de mer et du Liga.

En complément, la diversité fonctionnelle d'échantillons d'eau de mer et de Liga au début des périodes d'apparitions automnale et printanière a été étudiée par l'utilisation d'une puce à ADN (la GeoChip 5.0).

2.1. Analyse de la diversité par une technique d'empreintes moléculaires : la T-RFLP

Les techniques d'empreintes moléculaires sont les plus anciennes techniques de biologie moléculaire utilisées en écologie microbienne. Toujours couramment

utilisées de nos jours, elles permettent de décrire rapidement la structure des communautés dans des études comparatives.

Comme la plupart des autres méthodes d'empreintes moléculaires, la T-RFLP est basée sur l'amplification par PCR d'un gène cible. Dans le cas de la T-RFLP, l'amplification est réalisée avec des amorces ayant leur extrémité 5' et/ou 3' marquée avec une molécule fluorescente. Le mélange d'amplicons est ensuite soumis à une digestion des fragments par une enzyme de restriction. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire et les tailles des différents fragments terminaux marqués sont déterminées grâce à l'utilisation d'un marqueur de taille. Ainsi, seuls les fragments terminaux sont détectés tandis que tous les autres fragments sont ignorés.

2.1.1. Extraction d'ADN

A l'issue des prélèvements nous avons trois types d'échantillons : des filtres d'eau de mer, d'eau de l'Adour, et les différentes fractions du Liga. Les filtres vont d'abord être prédécoupés en morceaux de 1 mm² à l'aide d'un scalpel stérile sous hotte à flux laminaire (PSM). Ensuite, le kit DNA Power Soil (Mo Bio Laboratories, Solana Beach, CA, USA) a été utilisé pour extraire l'ADN des filtres prédécoupés et de la fraction agrégée du Liga suivant les recommandations du fabricant à l'exception d'une étape de 1 minute d'incubation du tampon d'élution à température ambiante à été ajoutée au protocole juste avant l'élution. L'élution a été faite dans 100 µL d'eau pure stérile et les ADN extraits sont conservés à -20°C. Ces extractions ont été réalisées indépendamment sur chaque réplicat d'échantillonnage (sachant que tous les prélèvements ont été effectués en triplicats).

2.1.2. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S ou 18S par PCR en temps final

Les gènes codant pour les ARNr 16S et 18S sont constitués d'une alternance de régions variables et de régions conservées. Les régions conservées vont permettre l'hybridation d'amorces universelles de chaque domaine du vivant pour essayer d'amplifier un maximum d'espèces différentes dans les prélèvements. Les régions

variables vont permettre de différencier les unités taxonomiques opérationnelles (OTU, de l'anglais Operational Taxonomic Unit) entre elles.

Tout le matériel destiné à la préparation des réactions de PCR est préalablement exposé aux rayons UV dans une enceinte fermée pour éliminer toute trace d'ADN pouvant s'y trouver. Les réactions de PCR ont été réalisées individuellement pour chaque réplicat, dans des tubes individuels pour éviter la contamination inter-puits qui peut se produire lorsque l'on travaille en plaque. Ces réactions de PCR sur l'ADN extrait ont été réalisées dans un volume final de 25 µL contenant 0,2 µM de chacune des deux amorces utilisées, 12,5 µL d'AmpliTaq Gold® 360 Master Mix à 2X, 1 µL d'ADN et 10,5 µL d'eau MilliQ filtrée et autoclavée. Les cycles d'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S sont : 10 minutes à 95°C, puis 35 cycles avec 45 secondes de dénaturation à 95°C, 45 secondes d'hybridation à la température adaptée et 1 minute d'élongation à 72°C. Pour les eucaryotes, les cycles d'amplification du gène codant pour l'ARN 18S ont été de : 10 minutes à 94°C, puis 35 cycles avec 30 secondes de dénaturation à 94°C, 45 secondes d'hybridation à la température adaptée (voir tableau II.2) et 1 minute d'élongation à 72°C. Le temps d'élongation final à 72°C a été de dix minutes pour les amplifications d'ADN procaryotes et eucaryotes. La qualité et la spécificité de l'amplification des produits de PCR a ensuite été vérifiée par migration sur gel d'agarose (protocole détaillé dans le paragraphe suivant).

Tableau II.2 : Amorces utilisées pour l'amplification des régions des gènes de l'ARNr 16S et 18S pour la T-RFLP.

Gènes ciblés	Amorces	Séquence 5'-3'	Température d'hybridation	Taille des amplicons	Référence
ARNr 16 S	Archeae	344F-Fam 915R-Hex	GYGCASCAGKCGMGAAW GGACTACVSGGGTATCTAAT	61°C	571 pb Takai and Horikoshi, 2000
	Bacteria	357F-Fam 926R-Hex	CCTACGGGAGGCAGCAG CCGTCAATTCMTTTRAGT	55°C	569 pb Lane, 1991 Muyzer and Ramsing, 1995
ARNr 18S	Eucarya	Euk1A-Hex Euk516R-GC	CTGGTTGATCCTGCCAG ACCAGACTTGCCCTCC	56°C	516 pb Sogin and Gunderson, 1987 Amann et al., 1990

2.1.3. Contrôle de la qualité des amplification sur gel d'agarose

Après amplification, la qualité et la taille des amplicons obtenus ont été vérifiées par électrophorèse en gel d'agarose 1% (m/v) (EuroBio) dans du TBE 1X (acide borique 90 mM, Tris-base 90 mM, EDTA 2,5 mM pH 8,3) en présence de 0.125µg/ml de bromure d'éthidium (BET). La migration des différents échantillons, ainsi que d'un marqueur de poids moléculaire (Smart Ladder, échelle de 200 à 10.000 pb), a été réalisée sous une tension de 100 V, pendant 30 minutes. Les volumes déposés étaient de 1µL pour les échantillons d'ADN et 1µL de Smart Ladder. Les gels d'agarose ont ensuite été exposés aux rayons UV afin de visualiser par fluorescence les acides nucléiques avec un ImagerMaster® VDS (PharmaBiotech). Le marqueur de taille a également permis la quantification des acides nucléiques par comparaison de l'intensité des fragments puisque chaque fragment d'ADN correspond à des quantités d'ADN connues.

2.1.4. Découpe de la bande d'intérêt sur gel d'agarose

Suite à l'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien, il est parfois arrivé que plusieurs bandes apparaissent (figure II.4). Ces échantillons ont donc été ré-amplifiés, chaque réplicat étant toujours traité indépendamment, selon les conditions précédemment décrites (§ 2.1.2). Ensuite, la totalité des produits de PCR obtenus a été déposée sur un gel d'agarose à 1% (voir le paragraphe précédent pour la préparation du gel) et ont migré 1h à 50V. La bande d'intérêt a ensuite été découpée au scalpel stérile sur une plaque à rayons UV préalablement nettoyée.

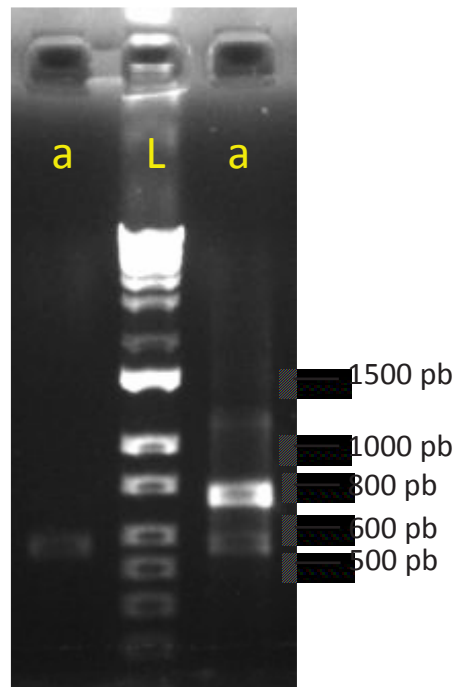


Figure II.4 : Photographie de gel d'électrophorèse. Dans les puits a se trouvent des amplicons obtenus avec les amorces permettant d'amplifier le gène codant pour l'ARNr 16S bactérien et dans le puits L se trouve le Ladder. Dans le puits de gauche nous avons une amplification normale et dans le puits de droite nous avons une amplification anormale avec plusieurs bandes.

2.1.5. Purification des produits PCR

Les produits PCR ont été purifiés à l'aide du kit commercial *GFXTM* Purification Kit (GE Healthcare), selon les recommandations du fournisseur. Chaque réplicat est purifié indépendamment. Cette purification a pour but de séparer les fragments d'ADN amplifiés du milieu réactionnel de la PCR (protéines, sels, dNTP résiduels) ainsi que de l'excès d'amorces non utilisées. Dans certains cas, des amplifications aspécifiques se sont produites pour certains échantillons (figure II.4). Le fragment d'intérêt a alors été découpé dans le gel d'agarose, après une migration d'1h à 50V, sous illumination UV à l'aide d'un scalpel stérile en prenant soin de nettoyer support et lame pour chaque découpage.

Trois types de purifications ont été réalisés selon le nombre de bandes observées en PCR pour les purifications individuelles (1, *GFXTM* DNA Purification Kit ; 2, *GFXTM* Gel Band Purification Kit) et pour les purifications simultanées de plusieurs produits PCR : *GFXTM* Plaques Purification Kit. La qualité et la taille des produits

de PCR purifiés ont été vérifiées par électrophorèse sur gel (voir § 2.1.3) en suivant les mêmes conditions que pour les expériences précédentes.

2.1.6. Digestion des amplicons

Quatre enzymes de digestions ont été testées pour essayer d'obtenir les meilleurs résultats sur les amplicons de chaque domaine du vivant (archées, bactéries et eucaryotes). Ces tests ont été effectués sur des échantillons provenant de l'Adour et de l'eau de mer aux trois profondeurs, après avoir amplifié (i) soit le gène codant pour l'ARNr 16S des bactéries, (ii) soit le gène codant pour l'ARNr 16S des archées, (iii) soit le gène codant pour l'ARNr 18S des eucaryotes. Les quatre enzymes de restriction ont été choisies pour leur capacités à couper fréquemment le gène codant pour l'ARNr 16S (Blackwood et al., 2007; Moyer et al., 1996). Ainsi, les enzymes de restrictions *AluI*, *MspI*, *HaeIII* et *HhaI* ont été testées sur quelques amplicons des trois domaines du vivant dans les conditions préconisées (digestion de 100 ng d'ADN avec 6,7 U d'enzyme, 3h à 37°C, volume final de 10 µL). Dans ces conditions, l'enzyme de restriction donnant les profils de T-RFLP de meilleure qualité, distinguant au mieux les échantillons, et donnant un nombre élevé de pics pour les trois domaines du vivant était *MspI*. Basées sur les expériences de Sjöberg et al. (2013), cinq conditions de digestion ont été testées sur cette enzyme de restriction:

- 100 ng d'ADN avec 6,7 U d'enzyme, 3h à 37°C, volume final 10 µL (condition classique du laboratoire)
- 100 ng d'ADN avec 6,7 U d'enzyme, 5h à 37°C, volume final de 10 µL
- 200 ng d'ADN avec 6,7 U d'enzyme, 3h à 37°C, volume final de 10 µL
- 100 ng d'ADN avec 20 U d'enzyme, 3h à 37°C, volume final de 10 µL
- 100 ng d'ADN avec 6,7 U d'enzyme, 5h à 37°C, volume final de 10 µL

Selon les critères de sélection précédemment décrits, la condition retenue a été la quatrième : digestion de 100 ng d'ADN avec 20 U d'enzyme, 3h à 37°C, dans un volume final de 10 µL.

2.1.7. Séparation des fragments par électrophorèse capillaire

Les fragments de restriction ont été séparés par électrophorèse capillaire sur un séquenceur automatique ABI3130xl (Applied Biosystems). Les électrophorégrammes obtenus ont été soumis à une analyse préliminaire avec le logiciel Genemapper v1.4 (Applied Biosystems) permettant de déterminer les tailles des T-RF détectés. Ensuite, les profils obtenus pour chaque échantillon ont été regroupés dans une matrice pour analyse postérieure.

2.2. Analyse de la diversité par séquençage à haut débit MiSeq (Illumina)

2.2.1. Principe de la technique

Le séquençage MiSeq est une technique basée sur le principe de séquençage par synthèse. Elle permet la synthèse de dizaines de millions de fragments d'ADN amplifiés simultanément (figure II.5). Le principe de base de la méthode consiste tout d'abord à amplifier des séquences cibles d'ADN avec des amorces spécifiques contenant des adaptateurs (voir § 2.1.2). Les fragments sont alors fixés à la surface d'une cellule d'écoulement de verre, en utilisant une station micro-fluidique Illumina. Les fragments d'ADN, comportant des oligonucléotides complémentaires des adaptateurs, se fixent aléatoirement sur la cellule d'écoulement. L'hybridation de l'oligonucléotide de l'extrémité libre des fragments d'ADN à un oligonucléotide complémentaire de la cellule d'écoulement a lieu par le chauffage puis le refroidissement du système (formation d'un pont ; figure II.5). L'ajout d'une polymérase isotherme et de ses réactifs initie l'amplification des fragments dans une zone discrète ou «cluster» sur la surface des cellules d'écoulement, formant des clusters de séquences identiques. La cellule d'écoulement est ensuite placée dans une cassette fluide dans le séquenceur. Le séquençage par synthèse se déroule par cycles successifs d'incorporation d'un nucléotide à la fois. A chaque cycle, la polymérase et les quatre nucléotides marqués de façon différentielle avec un fluorophore sont ajoutés. L'extrémité 3'-OH des nucléotides étant inactivée

chimiquement, une seule base est constituée par cycle. Les nucléotides non fixés sont éliminés par lavage. La fluorescence est mesurée par enregistrement d'image afin d'identifier le nucléotide incorporé dans chaque groupe («cluster»). Ensuite, une étape chimique enlève le groupement fluorescent et débloque l'extrémité 3' afin de réaliser un nouveau cycle d'incorporation de la base suivante.

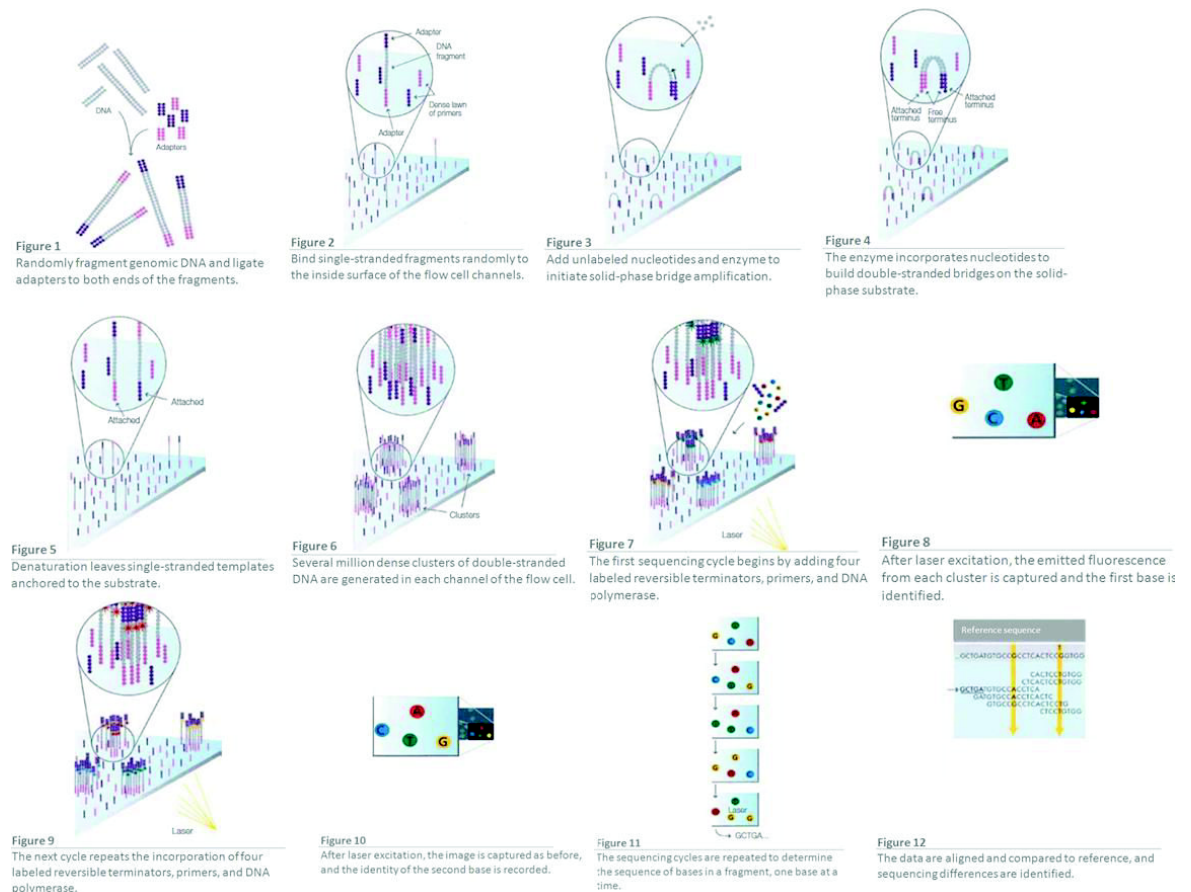


Figure II.5 : Schéma descriptif du principe de la technologie Illumina (Illumina®).

2.2.2. Amplification du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien ou 18S eucaryote par PCR

Les amplifications avec les adaptateurs illumina ont été réalisées au laboratoire de l'EEM sur les ADN des échantillons des prélèvements intensifs de Biarritz et des prélèvements d'eau de l'Adour (voir § 1.1 et 1.2). Les étapes préliminaires de préparation du matériel ont été réalisées de la même façon que celle décrite dans le § 2.1.2. Les réactions de PCR sur chaque réplicat d'ADN extrait ont été réalisées

dans un volume final de 25 μL contenant 0,25 μM de chacune des deux amorces utilisées, 12,5 μL d'AmpliTaq Gold® 360 Master Mix à 2X, 1 μL d'ADN et 10,25 μL d'eau MilliQ filtrée et autoclavée. Les cycles d'amplification sont : 10 minutes à 95°C, puis 30 cycles avec 1 minute de dénaturation à 95°C, 30 secondes d'hybridation à la température adaptée et 40 secondes d'élongation à 72°C. Un temps d'élongation final de 10 minutes à 72°C a ensuite été appliqué. Les amorces utilisées et les températures d'hybridation des réactions de PCR sont présentées dans le tableau II.3. La qualité et la spécificité de l'amplification des produits de PCR a ensuite été vérifiée par migration sur gel d'agarose (voir § 2.1.3 pour plus de détails). Les trois produits d'amplification issus des trois réplicats sont ensuite « poolés ».

Tableau II.3 : Liste des amorces utilisée pour les expériences de MiSeq.

Gènes ciblés	Amorces	Séquence 5'-3'	Température d'hybridation	Taille des amplicons	Référence
ARNr 16 S	Bacteria	V1-ill	59°C	492 pb	Frias-Lopez et al., 2002 Lane, 1991
		V3-ill		525 pb	
ARNr 18S	Eucarya	Euk1A-ill	56°C	572 pb	Sogin and Gunderson, 1987 Amann et al., 1990
		Euk516R-ill			

Les étapes suivantes ont été réalisées au Génopole de Toulouse Midi-Pyrénées (Genotoul, www.genotoul.fr) selon les instructions du fabricant. La technique de séquençage utilisée dans cette étude est le séquençage MiSeq 2 x 300pb pair-end, permettant de séquencer des fragments d'ADN de plus de 500 pb.

2.3. Analyse de la diversité fonctionnelle par puce à ADN GeoChip

2.3.1. Principe de la technique

La puce à ADN GeoChip est un type spécifique de puces à ADN ou ARN avec des sondes ciblant des séquences d'ADN spécifiques de domaines fonctionnel divers (figure II.6). L'ADN est d'abord dénaturé et marqué par une étiquette fluorescente, puis mis en contact sur la puce. Les séquences d'ADN complémentaires vont s'hybrider avec la sonde appropriée, et se retrouver ainsi « capturées » par la sonde. Après hybridation, les molécules d'ADN libres sont éliminées par lavage, et

l'intensité du signal des molécules d'ADN marqués par fluorescence sont traitées numériquement. L'image numérique est ensuite utilisée pour évaluer la concentration ou de l'abondance de l'ADN cible.

La GeoChip peut mesurer simultanément plusieurs séquences de gènes à partir d'un échantillon. Plusieurs générations de GeoChip ont été développées par le groupe du Dr. J. Zhou (He et al., 2012) et plusieurs évolutions successives ont été effectuées, permettant de passer d'un outil ciblant 2402 gènes (GeoChip 1.0) à un outil beaucoup plus élaboré ciblant maintenant 167.044 gènes couvrant 395,894 séquences codantes dans plus de 1500 familles de gènes fonctionnels microbiens (GeoChip 5.0). La GeoChip 5.0, utilisée dans cette étude, permet de cibler 11 catégories de gènes fonctionnels d'une grande variété de micro-organismes, chez les archaea, les bactéries, les champignons et les virus (tableau II.4).

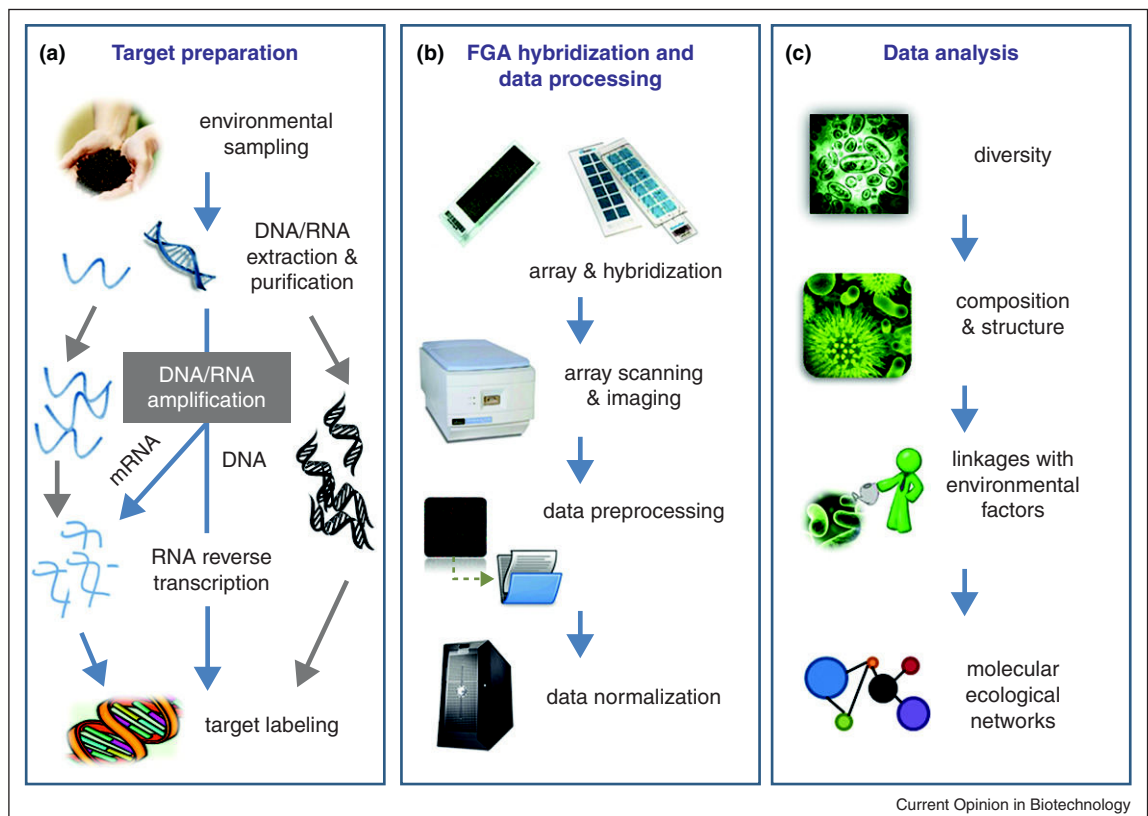


Figure II.6 : Principe de l'analyse de la diversité fonctionnelle *via* la technique de GeoChip. (He et al., 2012).

Tableau II.4 : Catégories de gènes ciblés par la GeoChip 4.0. Les catégories de la GeoChip 5.0 sont les mêmes. La GeoChip 5.0 contient cependant plus de sondes que la version 4.0. Ce tableau est une adaptation de Tu et al. (2014).

Catégorie de gènes	Nombre de gènes	Nombre de sondes	Nombre de séquences codantes couvertes
Cycle du carbone	41	11034	18071
Cycle de l'azote	17	7386	10744
Cycle du phosphore	3	351	2261
Cycle du soufre	6	3113	4049
Metabolisme secondaire	15	4187	6664
Homéostasie des métaux	44	9272	17198
Remédiation organique	184	17056	28716
Stress	45	21541	40635
Virus	40	1071	1987
Virulence	13	3726	7444
Autres (gyrB et bchY)	2	2347	4226

2.3.2. Marquage des ADN et hybridation sur la GeoChip 5.0

La concentration d'ADN extrait des échantillons est mesurée à l'aide d'un NanoDrop ND-1000. L'ADN a été ensuite marqué au Cy-3 utilisant des amorces dégénérées et la Taq polymérase I de Klenow (Wu et al., 2006). L'ADN a été purifié en utilisant le kit de purification rapide QIA (Qiagen, Valencia, CA, USA) selon les instructions du fabricant. L'ADN a ensuite été séché dans un SpeedVac (ThermoSavant, Milford, MA, USA) 45 minutes à 45°C puis réhydraté avec 2,68 µl d'un tampon NimbleGen. Les ADN ont été incubés dans ce tampon 5 minutes à 50°C, puis vortexés 30 secondes et enfin centrifugés pour faire retomber le mélange au fond du tube. 7,32 µl de tampon d'hybridation, sont ensuite ajoutés au mélange qui est de nouveau vortexé, centrifugé, puis incubé à 95°C pendant 5 minutes pour dénaturer l'ADN et ensuite 16h sous agitation à 42°C sur les puces pour l'hybridation. Après l'étape d'hybridation, les puces sont scannées par un scanneur de puces NimbleGen MS 2000 (Roche NimbleGen). Ces expériences ont été réalisées par Glomics Inc (Université de Norman, USA).

3. Analyses bioinformatiques

3.1. Nettoyage des données brutes de T-RFLP

Les données brutes sont dans un premier temps recueillies et analysées en utilisant le logiciel GeneMapper (version 1.4, Applied Biosystems). Tous les électrophorégrammes ont été vérifiés visuellement pour s'assurer de leur bonne qualité. Seuls les T-RF ayant une taille comprise entre 50 pb et 450 pb, marqués par HEX et présentant une intensité de fluorescence supérieure à 35 unités de fluorescence ont été retenus pour l'analyse. Les données nettoyées ont été importés dans le logiciel T-REX pour la suite du prétraitement (Culman et al., 2009, figure II.7). Les données ont été soumises à des procédures de contrôle de la qualité, notamment l'alignement des T-RF (seuil de clustering = 1 pb) et le filtrage du bruit (selon la surface du pic) selon les recommandations des auteurs (<http://trex.biohpc.org/>). Pour les analyses statistiques, les pics obtenus pour chaque triplicat ont été moyennés pour l'ensemble des réplicats formant un échantillon unique à analyser (au lieu de trois réplicats). Les intensités de fluorescence par T-RF pour chaque échantillon ainsi obtenues ont été normalisées par rapport à la fluorescence totale de chaque échantillon. Ensuite, les T-RF représentant moins de 1% de l'abondance relative par échantillon sont enlevés.

Typical Flow of Analysis

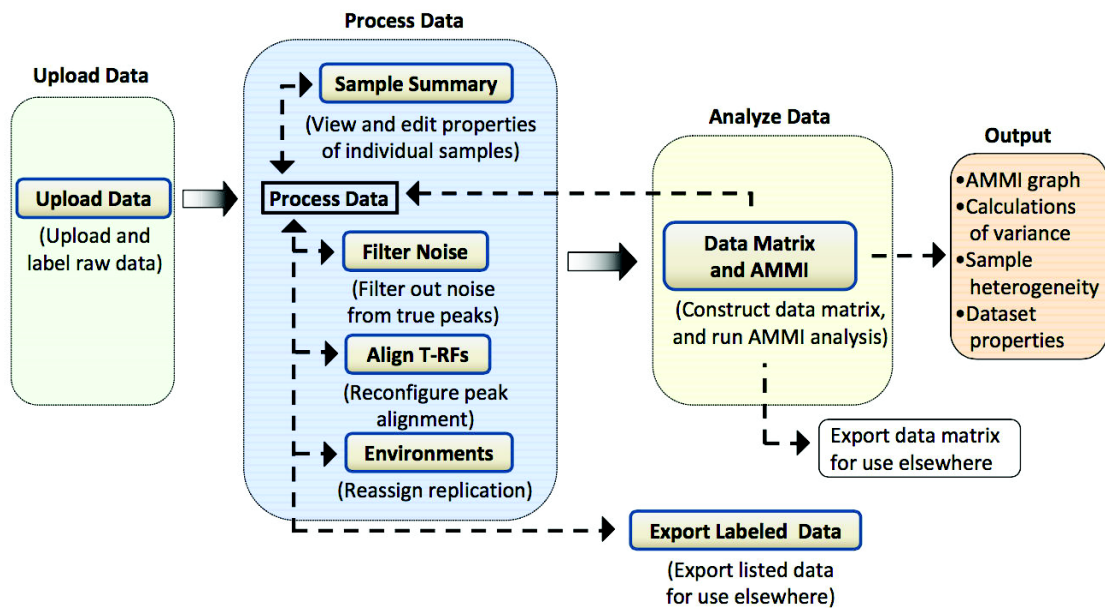


Figure II.7 : Etapes mises en œuvre lors du prétraitement des données de T-RFLP sur T-Rex. Figure de Culman et al. (2009).

3.2. Nettoyage des données brutes issues du séquençage MiSeq

La qualité générale des séquences a été vérifiée à l'aide du logiciel FastqC. Les lectures obtenues par séquençage à haut débit via la technique de MiSeq ont été assemblées, et les séquences ont été prétraitées avec le logiciel en libre accès MOTHUR (Schloss et al., 2009) sur la plateforme de calcul du Genotoul en suivant le tutoriel décrit par Kozich et al. (2013) disponible en ligne à l'adresse url www.mothur.org/wiki/MiSeq_SOP. Les principales étapes de nettoyage des séquences ont été (i) l'enlèvement des séquences qui ne sont pas à la taille attendue, (ii) la suppression des séquences dupliquées et (iii) la suppression des séquences chimériques. Pour des raisons techniques, le nombre de séquences du sous-échantillonnage des données prétraitées a dû être réduit à 5000 séquences pour les échantillons amplifiés avec les amorces ciblant le gène codant pour l'ARNr 16S bactérien et réduit à 2500 séquences pour les échantillons amplifiés avec les amorces ciblant le gène codant pour l'ARNr 18S eucaryote.

Le seuil de clustering retenu pour définir les OTU à l'issue du séquençage a été de 97%. Cette valeur permet une bonne définition des OTU à l'échelle de la famille et limite le nombre d'OTU créé artificiellement par les erreurs de séquençage (Huse et al., 2008). Les séquences ont été alignées sur la base de données SILVA nr119 pour attribuer les assignations taxonomiques et la définition des OTU a été effectuée avec le seuil de similarité de 97% pour les bactéries et pour les eucaryotes.

3.3. Nettoyage des données brutes de GeoChip

Les images numérisées des GeoChip 5.0 ont été quadrillées par un logiciel NimbleScan. Les signaux des sondes ont été normalisés par le signal de sondes standard internes à l'expérience. Les spots ayant un coefficient d'hybridation inférieur à 0,8 sont considérés comme nuls et retirés pour les analyses suivantes. Ensuite le bruit de fond moyen est calculé selon la formule suivante où stdev représente l'écart-type de chaque spot nul et n est le nombre de spots nuls :

$$\text{MeanVoidStdev} = \sqrt{\frac{\text{stdev}_1^2 + \text{stdev}_2^2 + \dots + \text{stdev}_n^2}{n}}$$

Ensuite les spots faux positifs, de signal inférieur à MeanVoidStdev x 2, sont retirés.

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur les logiciels R (v.3.1.2, R Development Core Team) et Primer-E (v6, Ltd, Ivybridge, UK) de Clarke (1993).

4.1. Analyse de la diversité biologique et fonctionnelle

4.1.1. Analyse de la diversité alpha

La distribution des échantillons a été représentée par des diagrammes en perles obtenus avec un script créé par Cédric Hubas du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris sur le logiciel R. La similarité au sein de chaque compartiment a

été analysée par SIMPER-test (SIMilarity PERcentage analyses) avec le logiciel Primer-E. Les abondances relatives des taxons et des gènes fonctionnels ont été calculés sur le pipeline de Glomics, disponible à l'adresse : <http://ieg.ou.edu/>. La diversité biologique des échantillons a été estimée par l'indice de diversité de Shannon (Shannon, 1948) car cet indice est mieux adapté aux biais engendrés par les méthodes d'amplification de l'ADN et de séquençage haut débit que d'autres indices de richesse (Kunin et al., 2010). La formule de l'indice de Shannon est la suivante, où H' représente l'indice de Shannon, i représente une espèce ou une OTU, p_i représente la proportion d'une espèce i par rapport au nombre total d'espèces (S) dans le milieu d'étude :

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

Cet indice prend en compte le nombre d'espèces et la distribution du nombre d'individus par espèces. Les indices de diversité de Shannon ont été calculés à l'aide du logiciel R avec le package *vegan* (Oksanen et al., 2015). Les différences significatives entre les indices de diversité de Shannon ont été testées par ANOVA et les p-values ont été ajustées par le test de Tukey HSD avec le package *TukeyC* de Faria et al. (2015), avec le logiciel R.

4.1.2. Analyses de la diversité beta

La distance de Bray-Curtis (Bray and Curtis, 1957) permet d'évaluer la dissimilarité entre deux échantillons donnés. Les distances de Bray-Curtis ont été calculées entre les communautés à l'aide de Primer-E ou avec le package *vegan* (Oksanen *et al.*, 2015) lorsqu'elles ont été réalisées avec le logiciel R. La formule du calcul de la distance de Bray-Curtis est la suivante où BC_{jk} représente la distance de Bray-Curtis, i représente une espèce, N_{ij} représente l'abondance d'une espèce i dans l'échantillon j et N_{ik} représente l'abondance de la même espèce i dans l'échantillon k :

$$BC_{jk} = \frac{2 \sum_{i=1}^P \min(N_{ij}, N_{ik})}{\sum_{i=1}^P (N_{ij} + N_{ik})}$$

Des diagrammes de Venn, des heatmaps et des réseaux de distances ont été réalisés avec le logiciel R afin de visualiser la diversité partagée entre les différents groupes d'échantillons avec les packages *limma* de Ritchie et al. (2015), *ggplot2* de Wickham (2009) et *phyloseq* de McMurdie et Susan Holmes (2013) respectivement. De même, des analyses en cluster, des NMDS (Non-Metric Dimensional Scaling) et des PCoA (Principal Coordinate Analysis) ont été réalisées pour comparer la structure des communautés des différents échantillons, avec le logiciel Primer-E (sauf la PCoA sur les gènes fonctionnels qui a été réalisée sur le pipeline de Glomics, disponible à l'adresse <http://ieg.ou.edu/>). La similarité entre les différents compartiments a été testée par SIMPROF-test (SIMilarity PROFile test) en utilisant Primer-E. Les différences établies à posteriori entre les groupes d'échantillons ont été testées par PERMANOVA (PERmutational Multivariate Analysis Of Variance, (Anderson et al., 2008) qui est un test non-paramétrique selon un modèle permutatif, alternatif au test de MANOVA (Multivariate Analysis Of Variance, (Weinfurt, 1995)) et plus robuste, avec Primer-E. La p-value a été ajustée pour chaque comparaison deux à deux grâce à l'option Pair-wise.

4.2. Tests statistiques réalisés avec des données environnementales

Une analyse en composantes principales (ACP) a été mise en œuvre pour analyser la répartition de certaines variables environnementales et climatiques avec le logiciel Primer-E. Les variables ne suivant pas une distribution normale ont été au préalable transformées par $\log(x+1)$ pour se rapprocher de valeurs normales. Les corrélations entre les variables environnementales ont été analysées par un test de corrélation en utilisant le coefficient de Spearman avec le logiciel R. Nous avons aussi testé l'influence des variables environnementales sur les communautés microbiennes par des analyses canoniques de correspondance (Canonical Correspondence Analysis, CCA) à l'aide du package *vegan* (Oksanen et al., 2015). Pour cette analyse, les variables colinéaires ont été au préalable supprimées. De plus, les variables conservées avaient une valeur de *vif* inférieure à 3.

- Chapitre III -

**Étude des communautés microbiennes
impliquées dans la formation de Liga à
Biarritz**

1. Introduction du chapitre

Les MPM apparaissent de plus en plus fréquemment et abondamment dans le monde entier. Ces phénomènes concentrent la matière organique et les microorganismes alentours en agrégats visibles à l'œil nu potentiellement toxiques pour l'homme et pour l'environnement.

Les études passées sur l'apparition des MPM dans le monde, dans la tentative de caractérisation de ce composé, se sont principalement axées sur l'étude des microorganismes présents par des techniques de microscopie. Or, de nos jours, les techniques de biologie moléculaire associées aux gènes codant pour l'ARNr 16S ou 18S permettent à la fois d'étudier les communautés microbiennes dans les trois domaines du vivant, ainsi qu'un examen plus exhaustif de ces communautés.

Dans ce premier chapitre, nous allons étudier la structure des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et de la fraction agrégée du Liga, dans les trois domaines du vivant, grâce à une technique d'empreintes moléculaire : la T-RFLP. Nous allons ainsi tenter de déterminer les liens pouvant exister entre les communautés microbiennes de ces différents compartiments et tenter de comprendre la dynamique de formation du Liga au travers de notre année de prélèvements.

Pour séparer le plan de l'article, nous l'avons détaché de la numérotation du reste du manuscrit en commençant les numéros de paragraphes par des chiffres romains au lieu des chiffres arabes. Les échantillons utilisés dans cette partie sont présentés dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Types de prélèvements utilisés pour la comparaison des communautés microbiennes de Biarritz. En noir sont représentés les échantillons conservés pour les analyses, et en gris les échantillons exclus. L'échantillon de la fraction agrégé du Liga de Biarritz du 27 Septembre 2013 amplifié avec les amorces archées et l'échantillon d'eau de mer de surface du 16 Juillet 2013 étant très différents de tous les autres échantillons, ceux-ci ont été retirés des analyses.

Type de prélèvement	Lieu de Prélèvement	Nature de l'échantillon	Type d'échantillon
Intensif Mensuel	Adour	Eau douce	Surface
	Biarritz	Eau de mer	Surface Maximum de Chl <i>a</i> Fond
			Liga Agrégé Attaché Planctonique
	Tarnos	Eau de mer	Surface Maximum de Chl <i>a</i> Fond
			Liga Agrégé Attaché Planctonique

2. Dynamics of microbial communities across the three domains of life in the South of the Bay of Biscay (over an annual cycle) with special emphasis on marine mucilage.

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article en anglais qui sera soumis à « Limnology and Oceanography »

Vanessa Rouaud^a, Nicolas Susperrégui^b, Sabrina Bichon^c, Yolanda Del Amo^c, Philippe Gaudin^d, Robert Duran^a, Béatrice Lauga^a.

^a*Equipe Environnement et Microbiologie, UMR IPREM-EEM 5254, Université de Pau et des Pays de l'Adour (Pau, France)*

^b*Institut des milieux aquatiques (Bayonne, France)*

^c*Ecologie et Biologie des systèmes Côtiers (ECOBIOC, Bordeaux, France), ^d: UPPA-UMR ECOBIOP, Pôle d'Hydrobiologie INRA (Saint Pée sur Nivelle, France)*

Corresponding author : Vanessa Rouaud, vanessa.rouaud@univ-pau.fr

I. Introduction

Microorganisms that inhabit all marine ecosystems covers an extremely large amount of the diversity encountered in oceans. They are widely distributed in all marine habitats from seafloor to sunlit surface including the whole water column (Massana and Logares, 2013). Associated in more or less complex microbial communities, marine bacteria, archaea, protists, among which microalgae, fungi and viruses, although these later do not belong to any domain of life, ensure important role in Earth's biogeochemical cycles, sustained the basis of the foodweb and are at the basis of critical ecosystems services for human populations over the world (Fuhrman et al., 2015).

In recent years, marine bacterial communities, and more recently archaeal and virus have been the focus of most attention in marine ecosystems whereas few studies

paid attention to their eukaryotic component in spite of its contribution to marine microbial diversity, its roles in the biogeochemical processes and its incidence on bacterial communities dynamics (Caron et al., 2008). More importantly integrative approaches considering the three domains of microbial life are even scarcer. Since all the microorganisms of any domain may be intimately linked it is thus important to study and link both communities in order to understand global changes in marine ecosystems networks (Fuhrman et al., 2015). We have still to admit that despite the recent development of metagenomic tools that allow exploring more exhaustively the microbial diversity on Earth, marine microbial diversity is still largely underexplored. Three main explanations can be proposed: i) oceans and seas are vast, covering more than 70% of Earth's surface; ii) they are composed of huge stratified habitats characterized by important environmental variations (temperature, nutrient or light availability), each of these habitats potentially hosts original communities; iii) accessibility to any marine habitats is limited and constrained by heavy equipment and sampling campaigns may be sometimes perilous.

Surprisingly marine coastal areas are also concerned notwithstanding their accessibility may apparently be easier. In addition, with a higher productivity and nutrients availability marine coastal areas harbors also a diversity that is one order of magnitude higher than any other marine environments. As coastal areas are the siege of numerous processes and that they are intimately linked to important ecosystems services, the role of the coastal marine microbial communities in ecosystems functioning and services need further investigations. Since these zones are strongly under the influence of human activities and submitted to important environmental variations (freshwater runoff, river and wastewater treatment plant discharges, etc....), their sensitivity to fluctuating environment and disturbances due to continental inputs are also of first importance.

Among dramatic consequences of changing conditions, coastal areas are recurrently the place of blooms and mucilage events that translate a shift in the composition of the microbial communities (Godrijan, 2013; Hoppenrath, 2004).

Marine mucilages represent worldwide phenomena occurring sporadically and, in certain regions, episodically in coastal areas. They consist in a gelatinous evolving stages originating from the non-settling early marine snow. Their formation typically reflects an imbalance in the marine microbial communities leading to

formation of huge aggregates in the seawater. Marine mucilages are transitory phenomenon that can maintain in the photic zone for several days or weeks. Their size ranges from 0.5 cm to several kilometers (Precali et al., 2005). Occurrence have been described in some regions of the world such the Mediterranean Sea (Danovaro et al., 2009) in the Ariake Sea at the South of Japan (Fukao et al., 2009), in the Tasman Sea (MacKenzie et al., 2002), near the USA's Pacific coast (Alldredge and Crocker, 1995), in the Gulf of Mexico (Green and Dagg, 1997) and in the North Sea (Lancelot, 1995). The Northern Adriatic Sea was highly affected by the phenomenon were it was mentioned in the scientific literature for the first time in 1729 (Della Torre Tassis, 1746). Since then its appearance have been more frequent and more abundant and linked to global changes suggested (Danovaro et al., 2009).

Studies on marine mucilages around the world suggested that several factors trigger marine mucilage onset. Some of abiotic origin are due to climatic and anthropogenic forcing as well as nutrients inputs from river (De Lazzari et al., 2008; Umani et al., 2006) and other, of biotic origin, are the consequence of the response of microorganisms to these changing conditions (Cozzi et al., 2004; Flander-Putrlle and Malej, 2008). Although increased scientific attention has been paid to mucilage events in specific areas such the Northern Adriatic Sea, the causes of appraisal, the dynamics, and the respective role of microorganisms in such systems have still to be elucidated.

In this study we focused on marine mucilage that is observed for a few years in South Biscay Bay. It appears near Biarritz along the French coast, mainly at the South of the Adour estuary. Observations indicated that the phenomenon is becoming more and more abundant and invasive (Suspérregui et al 2012). Preliminary studies showed that it appears recurrently at two seasons, in spring (from March to May) and in fall (mainly in September and October). Although most studies that investigated marine mucilages around the world focused on the eukaryotic microbial community and use mainly microscopic observations to describe the associated microorganisms (Fukao et al., 2009; MacKenzie et al., 2002; Turk et al., 2010), we aimed at getting an overall view of all the microbial compartment, namely bacteria, archaea and eukaryotic microorganisms to depict its dynamics and eventually elucidate the relationships among the three domains of

life. We thus used molecular fingerprinting (T-RFLP) to characterize over one year the dynamics of microbial community in the mucilage but also in two other compartments supposed to be intimately linked to microbial community of the mucilage itself: the surrounding marine seawater and Adour river freshwater to evaluate continental inputs. Previous studies on marine mucilage from the South Biscay Bay have shown that some environmental parameters can favor or disfavor its formation (Suspérregui et al 2012). In consequence, physicochemical and climatic parameters were also characterized along the microbial to explore relationships between environmental parameters and the composition of the microbial structure.

II. Material and Methods

II.1. Study sites and sample collection

In order to follow marine mucilage events over one year, from May 2013 to May 2014 and in accordance to previous knowledge of these phenomena in the Southern Bay of Biscay, samplings were performed intensively during marine mucilage appearance and then monthly outside these periods (39 time points). Due to bad conditions at sea two months were not sampled in winter 2014 (January and February). Sampling points were located at sea (Biarritz site) but also in the Adour River, the main river of the Southern Bay of Biscay, at a site located 4 km upstream of the mouth (figure 1 and table S1. Hence we investigated five environmental compartments: freshwater of the Adour river, seawater at three depths, and marine mucilage.

Freshwater and seawater were collected with Niskin bottle. In the river, samplings were performed at 1 m depth below the surface (AS samples). At sea, multiple depths were considered: i) sub-surface, 1 meter depth (BS samples), ii) bottom, nearly 20 meter depth (BB samples) and in the deep chlorophyll *a* maximum (DCaM) concentration namely between 8 and 12 meters depth (BM samples). This chlorophyll *a* concentration was detected in real time with a CTD probe. Triplicates of Adour River freshwater and Biarritz seawater were filtered individually on 0.2µm –pore-size cellulose nitrate filter (Sartorius stedim Biotech GmbH). Filters

were then stored at -80°C . Marine mucilage samples (MM samples) were collected with a plankton net in the DCaM concentration and were then filtered on $60\mu\text{m}$ pore-size nylon membrane (NITEX). Aggregates were gathered on the top of the filter. They were first mixed up with a sterile spatula and then collected in triplicates before storage at -80°C .



Figure 1: Map of sampling stations. *Biarritz represent the marine sampling station ($43^{\circ} 29' 211$ N, $1^{\circ} 36' 095$ W) and *Adour represent the Adour River freshwater sampling station ($43^{\circ} 30' 076$ N, $1^{\circ} 17' 522$ W).

II.2. Environmental data collection

We used two kinds of environmental data in this study: physico-chemical parameters measured directly in samples or at sampling depth and climatic parameters.

Seawater temperature and salinity were measured during the sampling by a CTD sensor (Seabird). Suspended particulate matter was determined gravimetrically. Filters for particulate organic carbon (POC) and particulate organic nitrogen (PON) were decarbonated using HCl vapors (Lorrain et al., 2003) and analyzed using a Flash Elemental Analyzer Series 1112 (ThermoFinnigan). Chlorophyll a was extracted with 90% acetone and fluorescence was measured using a Turner Designs 10-AU fluorometer following Yentsch and Menzel (1963). Nutrient were analyzed following Aminot and Kérouel (2007) and using an AutoAnalyzer 3 BRAN+LUEBBE. Climatic data among the Adour river flow, the sea waves height, the averaged air temperature, the wind force, the pluviometry and the daily

sunshine, were picked from public French meteorological (Banque hydrologique, Windguru, MétéoFrance and Météostats).

II.3. Pretreatment of T-RFLP data

Raw data were first collected and analyzed using Genemapper software (version 1.4, Applied Biosystem). All T-RFLP electrophoregrams were visually inspected to ensure quality runs. T-RFs between 50 and 450 bp, labeled by HEX and a baseline threshold of 35 fluorescence units were included in the analysis to determine ‘true peaks’ from background noise. Resulting data were imported into T-REX software (Culman et al., 2009) for further processing. Data were subjected to quality control procedures including T-RFs alignment (clustering threshold = 1 bp) and noise filtering (peak area). For statistical analyses, T-RFs fluorescence intensity was standardized with total fluorescence for each replicates. Then T-RFs were included if they represented more than 1% of the cumulative peak height for the sample. Finally the three replicates were averaged to obtain overall diversity per sample for statistical analyses. The sample MM from October 2013 27th amplified with bacterial primers was excluded from the analyses because it contained only one peak. The sample BS from July 16th amplified with archaeal primers was also excluded from the analyses because it didn’t contain any peak.

II.4. Statistical analyses

Primer-E software (PRIMER-E Ltd., Ivybridge, UK) with Permanova + extension (Anderson et al., 2008) was used to perform multivariate analysis on environmental data and T-RFLP profiles. Principal Components Analysis (PCA) was used to ordinate samples according to environmental variables. Environmental variables were first log (x+1)-transformed for normalization before applying Euclidean distance. Correlations among variables were calculated using Pearson coefficient.

Non-parametric Shannon alpha diversity estimates, were calculated with R software v.3.1.2. with the vegan R-package (Oksanen et al., 2015) for each sample. PERmutational Multivariate ANalysis Of VAriance (PERMANOVA) was performed with Tuckey HSD test to identify differences between groups of samples. SIMilarity PERcentage analyses were performed in Primer-E to identify

T-RFs contribution to each kind of sample. Bray-Curtis algorithms were used to obtain dissimilarity distance matrix among samples from T-RFs data. PCoA (Principal Coordinate Analysis) were performed to highlight distances between the communities with PRIMER-E software. T-RFs distribution was assessed by heat map analysis using *ggplot2* package (Wickham et al., 2009).

III. Results and discussion

III.1. Physico-chemical characterization of samples at the DCaM revealed two environmental contexts over the year

Water of the Adour River collected 4 kilometers upstream the estuary was included in the survey in order to understand freshwater spills and terrestrial nutrients inputs into the coastal seawater. The Adour River has a pluvio-nival regimen, thus its flow rate, as expected, was higher during the late winter and spring (period of snow melting and strong pluviometry) than during summer and autumn, with the highest flow peak observed in March 2014 during the sampling period. Environmental data collected from the Adour freshwater showed that POC and PON concentrations were lower than in the seawater, whereas SiOH_4 concentration was high (Fig. 2a). Marine mucilage appeared after Adour River flow peaks in WS season and during the low-flow period in SA season in the South of the Bay of Biscay. In the Northern Adriatic Sea, it was already known that marine mucilage often appeared during a period of low Pô River flow, but also just after high flow of this same river before (Degobbis et al., 1995). Indeed, nutrients carried by the Pô River stimulated phytoplankton growth which was partly responsible of marine mucilage formation near the Pô River plume (Russo et al., 2005).

However in the Northern Adriatic Sea, it was suspected that climatic and physicochemical parameters played a convergent action to trigger marine mucilage appearance.

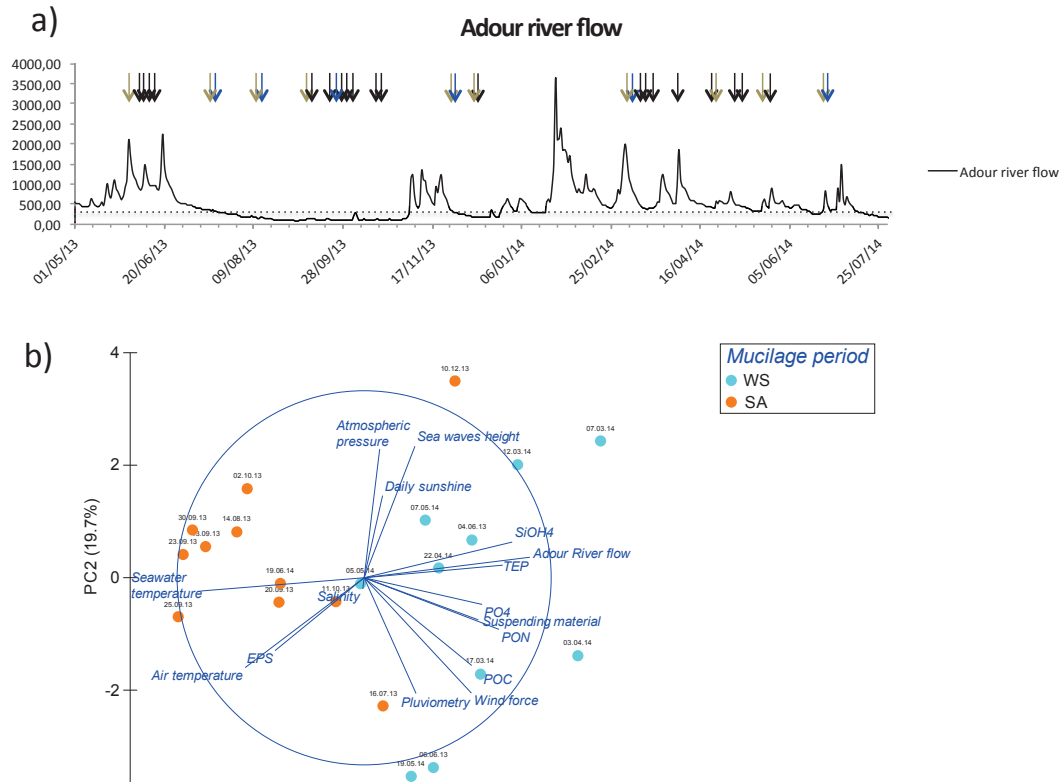


Figure 2: Characterization of sampling conditions recorded at DCaM according to environmental parameters during the one-year sampling campaign. a): Adour river flow during the sampling year. Brown arrows shows Adour River sampling dates, blue arrows shows seawater samplings dates during days without marine mucilage, black arrows shows seawater and marine mucilage sampling dates, dotted line represent mean Adour River flow calculated on several years. b): PCA on environmental parameters surveyed during the one-year sampling. PC1 axis: 33.8%. PC2 axis: 19.7%, PC1+PC2 = 53.5%. Orange dots represent the samples collected during summer and autumn (SA) and the blue dots represent the samples collected during winter and spring (WS). Physical-chemicals parameters were measured in the seawater at DCaM that is the same that marine mucilage depth. Climatic parameters represent the day average of the parameters. Seawater and air temperature are in Celsius degrees, salinity is in g.kg^{-1} , suspended particulate matter concentration is in mg.l^{-1} , PON, COP, EPS and TEP concentration are in $\mu\text{g.l}^{-1}$, SiOH₄ and PO₄ concentration is in $\mu\text{mol.l}^{-1}$, Adour River flow is in $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$, sea wave height is in meters, pluviometry is in millimeters per day,

Thus, a PCA performed on environmental parameters recorded at sea at the DCaM, that is the same depth where marine mucilage depth was collected, at the time of sampling (Fig. 2.b) allowed to distinguish mainly two marine environmental contexts during the year: late winter and spring period (WS) and late summer and autumn period (SA) (Fig. 2b.). Altogether the first two principal components (PC) of the PCA explained 53.5% of the variation in the environmental data set. From Pearson's correlation tests results, the seawater temperature was negatively correlated with the SiOH₄ concentration ($R = -0.81$) and the Adour River flow ($R = -0.77$). Positive correlation was observed between suspended particulate matter and

PO₄ concentrations (R = 0.75). PC1 clearly separated the samples according to these two periods of the year. High seawater temperatures mostly characterized SA samples along this axis. In contrast to SA samples, WS samples were mostly positively correlated to Adour River flow, SiOH₄, PON, POC, suspending particulate material, PO₄ and TEP concentrations. Interestingly the repartition of the samples along PC1 and to a lesser extent along PC2 highlighted that SA samples were collected during more changing conditions whereas conditions during late winter and spring were more stable and homogeneous according to environmental parameters measured. PERMANOVA test confirmed that environmental conditions distinguished clearly two contexts in the coastal seawaters at the South of the Adour River estuary: the WS period and the SA period (PERMANOVA, Pseudo-F=6.61, P=0.001). As outlined by Charles et al. (2012) and Hartman et al. (2014), these two periods contain many differences in their dynamics. Springs and winters are generally very rainy, the sea is disturbed by high sea waves and Adour River outflows are high due to snow melting upstream in the Pyrenees. In contrast summers and autumns are sunny, the sea is calm and Adour River outflows are low. Regarding our results we can distinguish that these two sets of environmental parameters driving marine microbial environment in the two periods of marine mucilage apparition correspond to environmental factors known to drive marine mucilage apparition in the Northern Adriatic Sea (Cozzi et al., 2004 ; Deserti et al., 2005 ; Umani et al., 2006). Moreover, the gyre present in the middle of the Northern Adriatic Sea in summer favored marine mucilage presence in the North of this sea (Cozzi et al., 2004). Recently, a kind of gyre has occurred in near the area of marine mucilage formation in the South of the Bay of Biscay (Ferrer et al., 2009), adding up to environmental factors favoring its apparition, following the example of the Northern Adriatic Sea marine mucilage apparitions. This gyre may be in cause of marine mucilage accumulation in our area of study.

III.2. Patterns of microbial diversity in freshwater, marine seawater, and marine mucilage communities all over the year coincides with environmental contexts

Marine mucilage tends to appear in the Northern Adriatic Sea after phytoplankton blooms (Totti et al., 2005). In our case of study, marine mucilage also appeared after diatoms and dinoflagellates blooms periods (Garcia-Soto and Pingree, 2009). In order to understand the role of microbial communities in marine mucilage formation in the South of the Bay of Biscay, we analyzed microbial diversity in the three domains of life.

III.2.1. Characteristics of microbial communities diversity at the alpha level

T-RFLP profiles revealed similar global richness for bacteria and eukaryotes with a total of 121 and 135 T-RFs, respectively. Richness was much lower for archaea with 57 T-RFs only. The number of T-RFs detected in each sample varied from 5 to 35 for bacteria, from 5 to 27 for eukaryotes and from 3 to 14 for archaea (Fig. S1). Interestingly archaeal 16S targets were not detected in marine mucilage indicating that archaea might not find suitable conditions or resources to thrive there. To the best of our knowledge microorganisms belonging to archaea domain had never been investigated and described in marine mucilages as the one studied here. Data are thus clearly lacking to explain this observation. We noticed however that this study echoes a study conducted by DeLong et al. (1993) that also failed to detect archaea in marine aggregates. This suggested that archaea requirements were not satisfied in these microenvironments, but also additionally that archaea may not utilize mucilage as a source of carbon or any others nutrients. In addition average Shannon diversity indices (H_{mean} , Table 1) indicated that in all compartments archaeal communities exhibited the lowest diversity. For the seawater compartment this result is congruent with the conclusion of DeLong et al. (1999) that found low archaeal cell densities in the first 100 m depth in the water column. In the case of eukaryotes, average Shannon diversity index was significantly higher in the Adour River (2.52 ± 0.46) than in the marine mucilage (1.41 ± 0.44) and the seawater, in

particular at the DCaM (1.72 ± 0.38 at the DCaM, 1.88 ± 0.39 at the sub-surface (BS) and 1.86 ± 0.44 at the bottom (BB)). In contrast the diversity of the bacterial community was significantly lower in marine mucilage and in the Adour River (2.03 ± 0.62 and 1.95 ± 0.25 , respectively) than in the seawater (2.38 ± 0.31 at the sub-surface, 2.33 ± 0.35 at the DCaM and 2.46 ± 0.27 at the bottom). Danovaro et al. (2009) using ARISA fingerprinting method found in contrary that bacterial diversity was more elevated in marine mucilage than in the waters surrounding mucilage. Marine mucilages are composed of an important fraction of extra-polymeric substances (EPS). These molecules are recognized as a major nutrient source in the oceans (Bongiorni et al., 2007; Cowie and Hedges, 1984). For this reason marine mucilages constitute important feeding resources. They provide also a solid surface suitable for attachment and colonization. In consequence discrepancies between our study and the study of Danovaro et al. (2009) can be explained by differences in terms of mucilage's biochemical composition, development stages and maturity and advance in recruitment and succession of microbial species on their surfaces (Dang and Lovell, 2000 ; Turk et al., 2010).

Table 1: Average Shannon diversity indices within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep chlorophyll maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.

	AS	BS	BM	BB	MM
Archaea	1.54 ± 0.21	1.23 ± 0.47	1.27 ± 0.37	1.28 ± 0.37	n.d.
Bacteria	1.95 ± 0.25	2.38 ± 0.31	2.33 ± 0.35	2.46 ± 0.27	2.03 ± 0.62
Eukaryotes	2.52 ± 0.46	1.88 ± 0.39	1.72 ± 0.38	1.86 ± 0.44	1.41 ± 0.44

nd: not detected

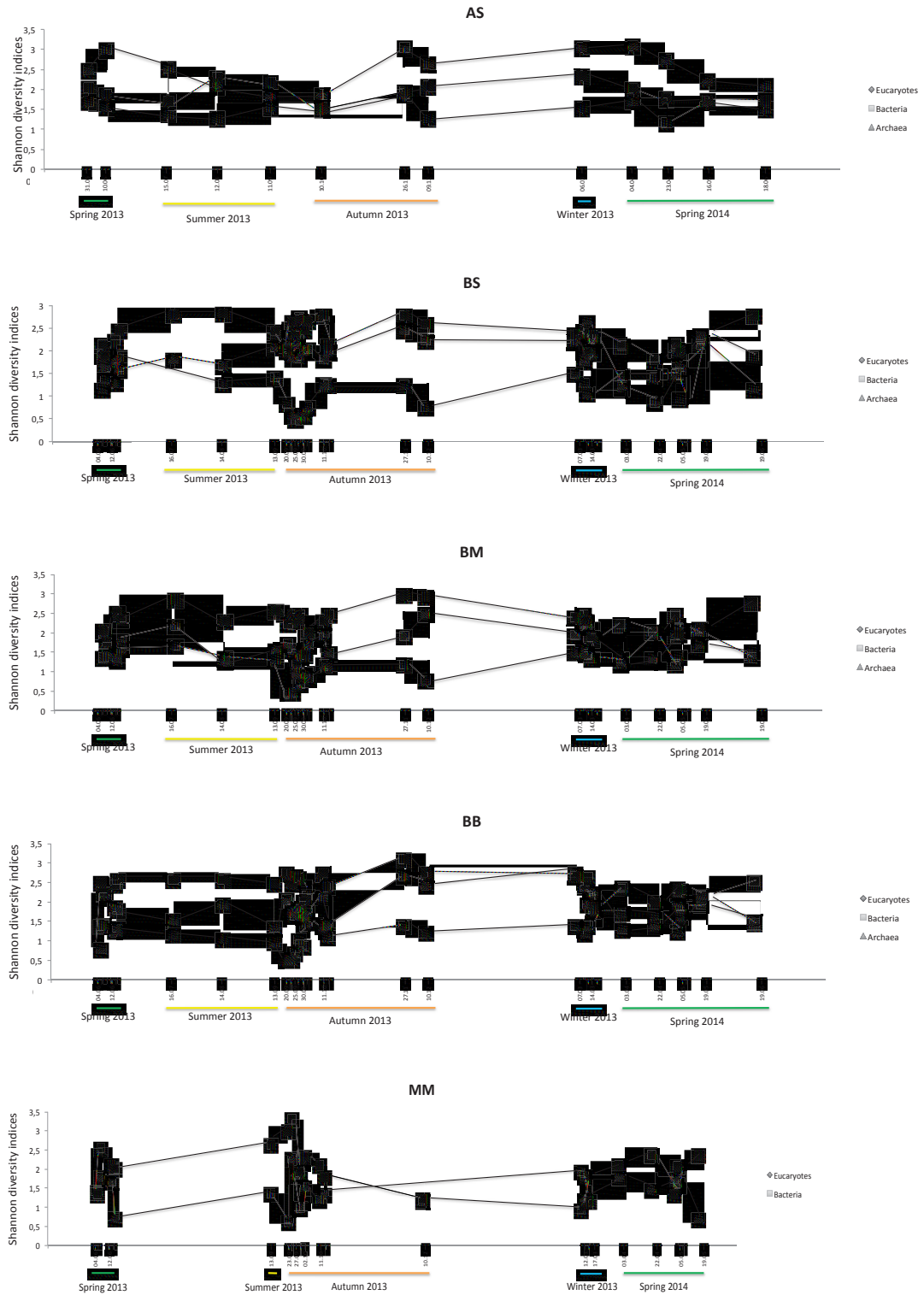


Figure 3: Diversity dynamics over the year within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep chlorophyll a maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.

Close examination of Shannon diversity dynamics assessed over the year (Fig. 3) was in accordance with the averaged profiles. In addition, an intriguing dynamics during autumn 2013 was noticed with an increase of bacterial diversity while in the same time archaeal diversity was decreasing in the water column at sea, in particular at the sub-surface. This pattern may suggest either negatives interactions between the two communities or some functional redundancy at this time of the year. Overall bacterial and eukaryotic diversities followed the same dynamics, included in marine mucilage. For any of the three domains of life it was impossible to reveal a specific pattern in marine or river waters compartments, such an increase or a decrease in diversity, around or during periods of marine mucilage appearance.

III.2.2. Diversity dynamics within environmental compartments over the year

Community composition within each environmental compartment was compared by SIMPER-test (Table 2). Among the three domains, archaeal community composition was the most homogenous all over the year in all compartments (from 63.38% of similarity within AS samples to 45.22% within BS samples). This result is in line with others studies suggesting that archaeal communities are poorly affected by seasonal variations (Murray et al., 1999). In contrast, eukaryotic communities were the most divergent in most compartments (25.82% for BB to 29.34% for AS) except in marine mucilage where the bacterial community was most variable over the year (28.24% of similarity; 36.84%, for eukaryotes). Apart MM, similarity of the bacterial community was 39.26% for BM and up to 51.86% for AS. For the archaeal communities, the similarity within most compartments was primarily due to the T-RF-136G which is one of the most abundant T-RF. Similarity within BM samples was primarily and equally due both to T-RF-70G and T-RF-136G. For the eukaryotic communities, the similarity within the three seawater compartments (BS, BM and BB) and within marine mucilage was primarily due to T-RF-376G. In the Adour River, the eukaryotic T-RF explaining most similarity in this compartment was the T-RF-374G. A different pattern occurred for bacterial communities since similarity within seawater samples at the three depths was mainly due to the T-RF 365G whereas it was T-RF-417G for MM compartment. In the Adour River, the bacterial T-RF explaining most similarity in

this group was the T-RF-309G. Hence this indicates that the microorganisms associated to these T-RFs have specialized niches in each of these compartments. In addition they are able to maintain in the community nearly all over the year independently of environmental changes that may operate indicating that they represent organisms with a generalist strategy to growth and survival inside this compartment (Pinhassi and Hagstroem, 2000). These observations were supported by results such as those of (Trigueros and Orive, 2001) showing that numerous microorganisms such as *Diploneis didyma*, *Gyrosigma fasciola*, were maintained all over the year in marine environment. Similarly, they highlighted that bacterial species among which *Pseudomonas veronii* and *Alcaligenes* sp. exhibited a wide temporal distribution.

Table 2: Percent of similarity (SIMPER-tests) within the five environmental compartments (AS: Adour River surface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz in the deep chlorophyll maximum, BB: Biarritz bottom, and MM: marine mucilage) for the three domains of life.

	AS	BS	BM	BB	MM
Archaea	63.38	45.22	48.84	47.18	nd
Eukaryotes	29.34	28.91	27.60	25,82	36.84
Bacteria	51.86	39.76	39.26	41.17	28.24

nd: not detected

III.2.3. Diversity among environmental compartments

The key role of marine microbial communities structure was highlighted many times around the world and some species were known to be involved in early stages of formation of marine mucilages (Fukao et al., 2009 ; MacKenzie et al., 2002). In order to compare the community structure of all compartments for each domain of life, PCoA analyses were performed (Fig. 4). For each domain, analyses distinguished clearly two groups over the year that overlay the two marine environmental contexts highlighted for DCaM at sea, the late winter and spring (WS) communities and the late summer and autumn (SA) communities. Fuhrman et al (2015) underlined the importance of temporal dynamics at different time scales in oceanic microbial communities. Although our data were collected only during one year, the observed pattern suggests that the microbial communities in the South Bay

of Biscay were also influenced by seasonal factors as it has been highlighted previously in numerous oceanic environments (e.g. Cram et al., 2015; Gilbert et al., 2012; Pinhassi and Hagstroem, 2000). For archaea, the first two PCO axes explained 67.83% of the variation in the data set. PCO2 clearly separated the samples according to these two periods of the year. Thus PCoA confirmed that archaeal communities were quite stable over the year as already highlighted by Murray et al (1999). For eukaryotes and bacteria, the first two PCO axes explained 36.59% and 38.22% of the variation, respectively. In these cases, PCO2 separated SA and WS samples. Congruent with this result, Gilbert et al (2012) showed that environmental parameters affected by seasonal variations were the main factors that shaped microbial communities in marine environments. These parameters appeared thus far more important than trophic interactions in marine ecosystems.

For all domains, Adour River communities were significantly different from seawater communities at any depth (PERMANOVA, $P=0.001$). Marine waters and freshwater differ greatly in several aspects, the most important is the salinity shift, which represents important barriers that numerous organisms cannot cross (Logares et al., 2009). The compositional divergence observed between the Adour River and the other marine compartments was thus expected. According to PERMANOVA, marine archaeal and bacterial communities at the three depths along the water column were similar. In contrast, for eukaryotic communities, BS and BB were significantly different (PERMANOVA, $P=0.028$). All comparisons indicated that marine mucilage community was significantly different from all communities of any compartment both for bacteria (PERMANOVA, $P=0.001$) and eukaryotes (PERMANOVA, $P\leq 0.013$).

Regarding the two periods of marine mucilage appearance, all marine microbial communities (archaeal, bacterial and eukaryotic) were significantly different between SA and WS periods (PERMANOVA, $P=0.003$ for archaea samples at BB and $P=0.001$ for all others). The same observation held as well for marine mucilage communities that significantly differ for both bacteria (PERMANOVA, $P=0.006$) and eukaryotes (PERMANOVA, $P=0.033$), no archaea was detected with our approach. These seasonal patterns are in accordance to previous studies on marine mucilage from the Northern Adriatic Sea (Degobbis et al., 1995).

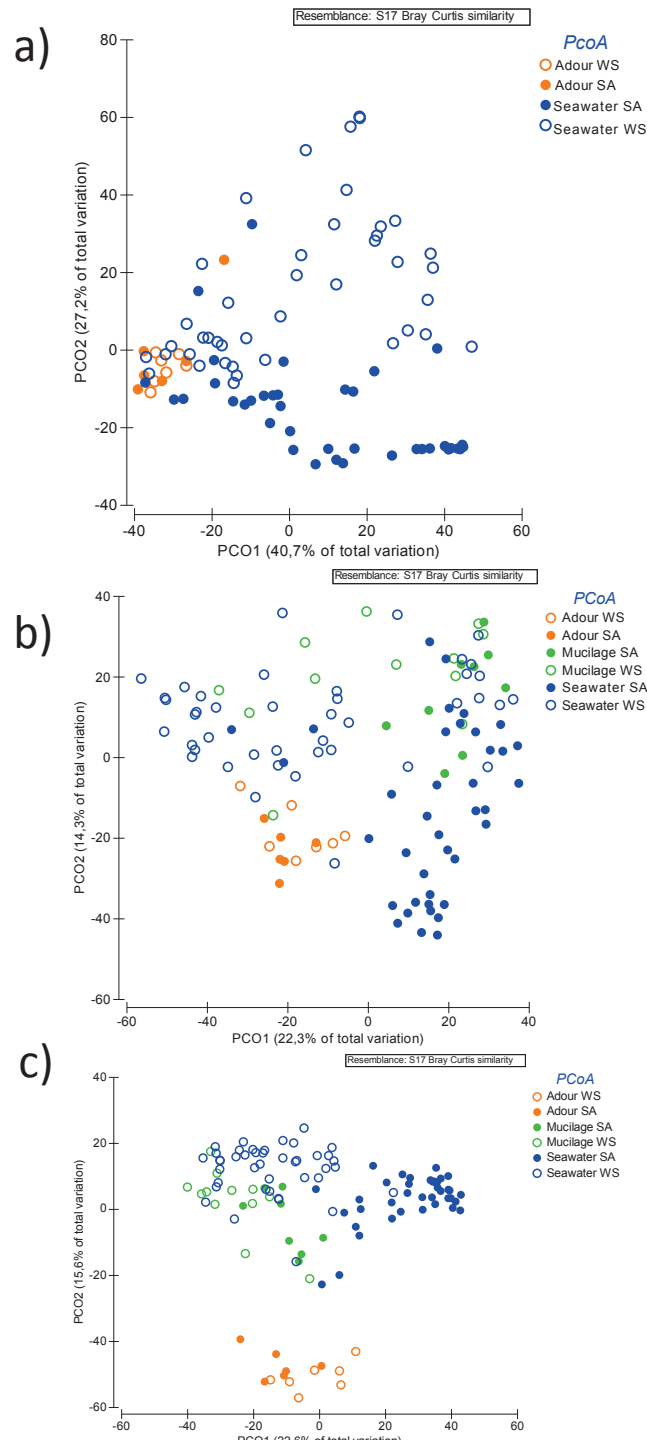


Figure 4: Influence of environmental parameters on seawater microbial communities. a) PCoA on archaeal communities: PCO1+PCO2 = 67.83%, b) PCoA on eukaryotic communities: PCO1+PCO2 = 36.59%, PCoA on bacterial communities: PCO1+PCO2 = 38.22%. The distance matrix used was Bray-Curtis. Orange circles represent Adour River samples, blue circles represent the seawater samples and green circles represent marine mucilage samples. Open circles represent winter and spring seasons and filled circles represent summer and autumn seasons.

As expected the T-RFs profiles of the AS samples exhibited the higher divergence among all compartments for any domains of life. Nevertheless, we found some shared T-RFs among all these compartments (on average 4.1 for archaea, 14.3 for eukaryotes and 5.4 for bacteria, figure. S1). Although salinity appeared as an important barriers that may structure communities (Logares 2009) it is not surprising to observe that some microorganisms are able to survive and maintain in contrasted salinity conditions as highlighted by Yung et al (2015). Considering only seawater, some specific T-RFs were found at each depth (for archaea, on average 0.9 T-RFs at BS, 0.6 at BM and 1.2 at BB; for eukaryotes, on average 2.8 T-RFs at BS, 2.3 T-RFs at BM and 4.8 at BB; and for bacteria 2.6 T-RFs at BS, 2.4 T-RFs at BM and 3.7 at BB). Along the seawater column most variation in microbial community composition was concentrated at the sub-surface (BS) for all microbial communities. Whereas few OTUs were common to all seawater depths for archaeal and eukaryotic communities (on average 1.5 and 2.5 T-RFs respectively), bacterial community composition was more homogeneous along the water column (on average 7.3 shared T-RFs, (figure S2). At the contrary, differences in eukaryotic composition along the water column were highlighted previously in our area of sampling (Trigueros and Orive, 2001). Concerning bacterial communities, our results are in accordance with Acinas et al. (1997) who showed that bacteria species were allocated uniformly along the water column.

III.3. Focus on the microbial composition of marine mucilage and seawater at DCaM for bacterial and eukaryotic communities

To get a precise picture of the connectivity and relationships that may exist between the communities of seawater at DCaM and the communities of marine mucilage collected at the same depth over the year, we inspect the heat maps that represent the abundance of each T-RFs for each sampling date both for bacteria and eukaryotes (Fig. 5). Nearly similar patterns representing all possible combinations could be highlighted for each domain. Additionally some T-RFs were observed preferentially either during the SA or WS periods suggesting seasonality in their appearance. Hence the ubiquitous T-RFs 277 and 365 were present at similar

abundance all over the year in both compartments. Other T-RFs found in both compartment such as the T-RF 378 appeared time to time over the year but could be more abundant in one compartment such as the T-RFs 378 in marine mucilage and 379 in seawater at DCaM. Seasonal pattern was observed for the T-RFs 280 and 226 which were mainly recorded during the SA period. In addition these T-RFs, only poorly detected in marine mucilage, appeared specific to the seawater at DCaM. At the opposite, T-RFs 369 and 297, two T-RFs slightly more abundant during SA period, were among the most prevalent T-RFs in marine mucilage whereas they were poorly present in the seawater at DCaM. To a lesser extend this situation hold for the T-RF 376 but its abundance, although lower in the SA period, was maintained during WS. The T-RFs 375 was only observed in the mucilage and the seawater at DCaM during the WS period. Thereby our observations support the results of previous study explaining that marine mucilage communities were constituted with aggregated eukaryotes from the seawater (Godrijan, 2013; Hoppenrath, 2004). Moreover, most of eukaryotic species observed in marine mucilage were found in the area of marine mucilage appearance apart from marine mucilage apparition also in the Northern Adriatic Sea (Totti et al., 2005). Differences between marine mucilage and seawater bacterial communities are in accordance with Danovaro et al. (2009) results, highlighting the differences between marine mucilage and surrounding seawater samples.

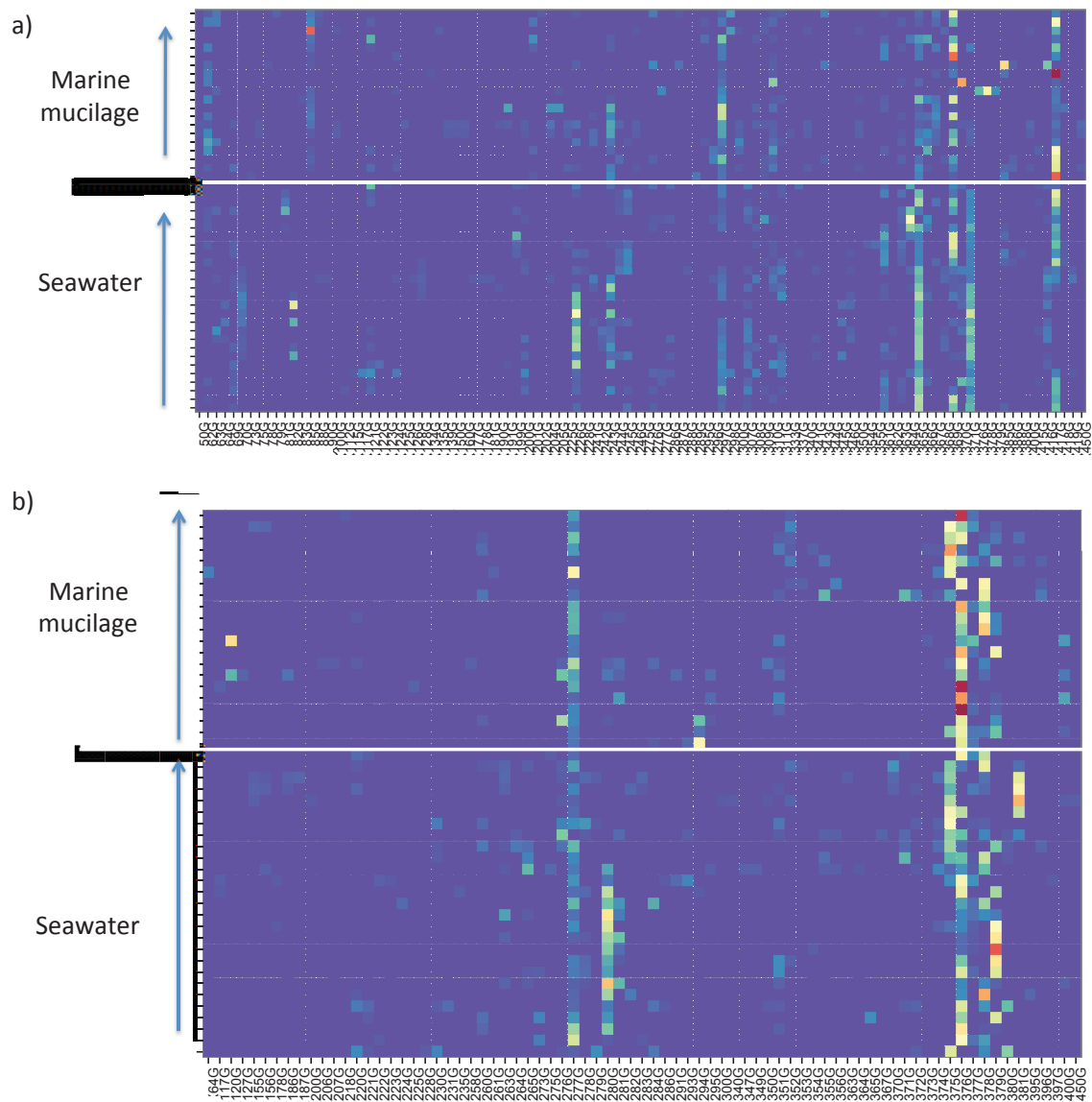


Figure 5: Heat map representing T-RF distribution in marine mucilage and in the seawater at the DCaM depth. Sampling dates are placed following the arrow from 2013 samples to 2014 samples. a) bacteria, b) eukaryotes.

IV. Conclusion

In this study we used a fingerprinting method (T-RFLP) to investigate marine microbial communities dynamics across the three domains of life in four compartments of coastal and river waters and in marine mucilage that occurred along the cost of the Southern Bay of Biscay. Our objectives aimed to reveal potential relationships between these communities with a special emphasis on

marine mucilage composition. Sampling performed over an annual cycle allowed investigating these relationships in different environmental contexts. In line with numerous studies conducted in marine environments we highlight in our study that the dynamics of marine microbial communities in the Bay of Biscay was decomposed in two main periods that coincided with seasonal variations. More interestingly this dynamics affects also the marine pelagic mucilage that was observed during the sampling campaigns conducted during this study. We highlighted that marine microbial communities were different from marine mucilage communities for all domains of life. Thus we can suppose that MPM acts as a microecosystems that possess distinct microbial assemblage from the surrounding communities.

V. References

- Acinas, S.G., Rodríguez-Valera, F., Pedrós-Alió, C., 1997. Spatial and temporal variation in marine bacterioplankton diversity as shown by RFLP fingerprinting of PCR amplified 16S rDNA. *FEMS Microbiol. Ecol.* 24, 27–40.
- Allredge, A.L., Crocker, K.M., 1995. Why do sinking mucilage aggregates accumulate in the water column? *Sci. Total Environ.* 165, 15–22.
- Amann, R.L., Binder, B.J., Olson, R.J., Chisholm, S.W., Devereux, R., Stahl, D.A., 1990. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1919–1925.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines: méthodes en flux continu. Editions Quae.
- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, R.K., 2008. Permanova+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods.
- Bianchi G., 1746. Descrizione del Tremuoto grande che vi fu in Arimino l'anno 1672 adì 14 aprile il Giovedì
Santo alle ore 22 in circa. In: Raccolte d'Opuscoli scientifici e filosofici, t. XXXIV, 243-258.
- Bongiorni, L., Armeni, M., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2007. Viruses, prokaryotes and biochemical composition of organic matter in different types of mucilage aggregates. *Aquat. Microb. Ecol.* 49, 15–23.
- Caron, D.A., Worden, A.Z., Countway, P.D., Demir, E., Heidelberg, K.B., 2008. Protists are microbes too: a perspective. *ISME J.* 3, 4–12.
- Charles, E., Idier, D., Delecluse, P., Déqué, M., Le Cozannet, G., 2012. Climate change impact on waves in the Bay of Biscay, France. *Ocean Dyn.* 62, 831–848.
- Cowie, G.L., Hedges, J.I., 1984. Carbohydrate sources in a coastal marine environment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 2075–2087.
- Cozzi, S., Ivančić, I., Catalano, G., Djakovac, T., Degobbi, D., 2004. Dynamics of the oceanographic properties during mucilage appearance in the Northern Adriatic Sea: analysis of the 1997 event in comparison to earlier events. *J. Mar. Syst.* 50, 223–241.
- Cram, J.A., Chow, C.-E.T., Sachdeva, R., Needham, D.M., Parada, A.E., Steele, J.A., Fuhrman, J.A., 2015. Seasonal and interannual variability of the marine bacterioplankton community throughout the water column over ten years. *ISME J.* 9, 563–580.
- Culman, S.W., Bukowski, R., Gauch, H.G., Cadillo-Quiroz, H., Buckley, D.H., 2009. T-REX: software for the processing and analysis of T-RFLP data. *BMC Bioinformatics* 10, 171.
- Dang, H., Lovell, C.R., 2000. Bacterial primary colonization and early succession on surfaces in marine waters as determined by amplified rRNA gene restriction analysis and sequence analysis of 16S rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 467–475.
- Danovaro, R., Fonda Umani, S., Pusceddu, A., 2009. Climate Change and the Potential Spreading of Marine Mucilage and Microbial Pathogens in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE* 4, e7006.
- Degobbi, D., Fonda-Umani, S., Franco, P., Malej, A., Precali, R., Smoldaka, N., 1995. Changes in the northern Adriatic ecosystem and the hypertrophic appearance of gelatinous aggregates. *Sci. Total Environ.* 165, 43–58.
- De Lazzari, A., Berto, D., Cassin, D., Boldrin, A., Giani, M., 2008. Influence of winds and oceanographic conditions on the mucilage aggregation in the Northern Adriatic Sea in 2003–2006. *Mar. Ecol.* 29, 469–482.
- DeLong, E.F., Franks, D.G., Allredge, A.L., 1993. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs. free-living marine bacterial assemblages. *Limnol. Oceanogr.* 924–934.
- DeLong, E.F., Taylor, L.T., Marsh, T.L., Preston, C.M., 1999. Visualization and enumeration of marine planktonic archaea and bacteria by using polyribonucleotide probes and fluorescent in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 5554–5563.
- Deserti, M., Cacciamani, C., Chiggiato, J., Rinaldi, A., Ferrari, C.R., 2005. Relationships between northern Adriatic Sea mucilage events and climate variability. *Sci. Total Environ.* 353, 82–88.
- Ferrer, L., Fontan, A., Mader, J., Chust, G., Gonzales, M., Valencia, V., Uriarte, A., Collins, M.B.,

2009. Low-salinity plumes in the oceanic region of the Basque Country. *Cont. Shelf Res.* 29, 970-984.
- Flander-Putrlle, V., Malej, A., 2008. The evolution and phytoplankton composition of mucilaginous aggregates in the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae* 7, 752-761.
- Fuhrman, J.A., Cram, J.A., Needham, D.M., 2015. Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 133-146.
- Fukao, T., Kimoto, K., Yamatogi, T., Yamamoto, K., Yoshida, Y., Kotani, Y., 2009. Marine mucilage in Ariake Sound, Japan, is composed of transparent exopolymer particles produced by the diatom *Coscinodiscus granii*. *Fish. Sci.* 75, 1007-1014.
- Garcia-Soto, C., Pingree, R.D., 2009. Spring and summer blooms of phytoplankton (SeaWiFS/MODIS) along a ferry line in the Bay of Biscay and western English Channel. *Cont. Shelf Res.* 29, 1111-1122.
- Giani, M., Sist, P., Berto, D., Serrazanetti, G.P., Ventrella, V., Urbani, R., 2012. The organic matrix of pelagic mucilaginous aggregates in the Tyrrhenian Sea (Mediterranean Sea). *Mar. Chem.* 132-133, 83-94.
- Gilbert, J.A., Steele, J.A., Caporaso, J.G., Steinbrück, L., Reeder, J., Temperton, B., Huse, S., McHardy, A.C., Knight, R., Joint, I., others, 2012. Defining seasonal marine microbial community dynamics. *ISME J.* 6, 298-308.
- Godrijan, D.M., 2013. Seasonal phytoplankton dynamics in the coastal waters of the north-eastern Adriatic Sea. *J. Sea Res.* 77, 32-44.
- Green, E.P., Dagg, M.J., 1997. Mesozooplankton associations with medium to large marine snow aggregates in the northern Gulf of Mexico. *J. Plankton Res.* 19, 435-447.
- Hartman, S.E., Hartman, M.C., Hydes, D.J., Jiang, Z.-P., Smythe-Wright, D., González-Pola, C., 2014. Seasonal and inter-annual variability in nutrient supply in relation to mixing in the Bay of Biscay. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.*
- Hoppenrath, M., 2004. A revised checklist of planktonic diatoms and dinoflagellates from Helgoland (North Sea, German Bight). *Helgol. Mar. Res.* 58, 243-251.
- Lancelot, C., 1995. The mucilage phenomenon in the continental coastal waters of the North Sea. *Sci. Total Environ.* 165, 83-102.
- Lane, D.L., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics.* Wiley, New York.
- Logares, R., Bråte, J., Bertilsson, S., Clasen, J.L., Shalchian-Tabrizi, K., Rengefors, K., 2009. Infrequent marine-freshwater transitions in the microbial world. *Trends Microbiol.* 17, 414-422.
- MacKenzie, L., Sims, I., Beuzenberg, V., Gillespie, P., 2002. Mass accumulation of mucilage caused by dinoflagellate polysaccharide exudates in Tasman Bay, New Zealand. *Harmful Algae* 1, 69-83.
- Massana, R., Logares, R., 2013. Eukaryotic versus prokaryotic marine picoplankton ecology. *Environ. Microbiol.* 15, 1254-1261
- Murray, A.E., Blakis, A., Massana, R., Strawzewski, S., Passow, U., Alldredge, A., DeLong, E.F., 1999. A timeseries assessment of planktonic archaeal variability in the Santa Barbara Channel. *Aquat. Microb. Ecol.* 20, 129-145.
- Muyzer, G., Ramsing, N.B., 1995. Molecular methods to study the organization of microbial communities. *Water Sci. Technol.* 32, 1-9.
- Pinhassi, J., Hagstroem, A., 2000. Seasonal succession in marine bacterioplankton. *Aquat. Microb. Ecol.* 21, 245-256.
- Precali, R., Giani, M., Marini, M., Grilli, F., Ferrari, C.R., Pečar, O., Paschini, E., 2005. Mucilaginous aggregates in the northern Adriatic in the period 1999-2002: Typology and distribution. *Sci. Total Environ.* 353, 10-23.
- Russo, A., Maccaferri, S., Djakovac, T., Precali, R., Degobbis, D., Deserti, M., Paschini, E., Lyons, D.M., 2005. Meteorological and oceanographic conditions in the northern Adriatic Sea during the period June 1999-July 2002: Influence on the mucilage phenomenon. *Sci. Total Environ.* 353, 24-38.
- Sogin, M.L., Gunderson, J.H., 1987. Structural Diversity of Eukaryotic Small Subunit Ribosomal RNAs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 503, 125-139.
- Takai, K., Horikoshi, K., 2000. Rapid detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5066-5072.

- Totti, C., Cangini, M., Ferrari, C., Kraus, R., Pompei, M., Pugnetti, A., Romagnoli, T., Vanucci, S., Socal, G., 2005. Phytoplankton size-distribution and community structure in relation to mucilage occurrence in the northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 204–217.
- Trigueros, J.M., Orive, E., 2001. Seasonal variations of diatoms and dinoflagellates in a shallow, temperate estuary, with emphasis on neritic assemblages. *Hydrobiologia* 444, 119–133.
- Turk, V., Hagström, Å, Kovač, N., Faganeli, J., 2010. Composition and function of mucilage macroaggregates in the northern Adriatic. *Aquat. Microb. Ecol.* 61, 279–289.
- Umani, S.F., Del Negro, P., Larato, C., De Vittor, C., Cabrini, M., Celio, M., Falconi, C., Tamberlich, F., Azam, F., 2006. Major inter-annual variations in microbial dynamics in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea) and their ecosystem implications. *Aquat. Microb. Ecol.* 46, 163–175.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence, in: *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*. Elsevier, pp. 221–231.

VI. Supplemental material

Table S1. : Samples collected over one year at three sampling stations in the South Biscay Bay.

* indicates samples with missing environmental data. AS: Adour subsurface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz mix layer, BB: Biarritz bottom, MM: Biarritz marine mucilage.

Month of sampling	Date of sampling	Adour river samples	Biarritz seawater samples	Biarritz mucilage samples	Period
May 2013	31/05/13	AS			WS
June 2013	04/06/13		BS-BM-BB	MM	WS
	06/06/13		BS-BM-BB	MM	WS
	10/06/13	AS			WS
	12/06/13*		BS-BM-BB	MM	WS
	14/06/13*		BS-BM-BB	MM	WS
July 2013	15/07/13	AS			SA
	16/07/13		BS-BM-BB		SA
August 2013	12/08/13	AS			SA
	14/08/13		BS-BM-BB		SA
September 2013	11/09/13	AS			SA
	13/09/13		BS-BM-BB	MM	SA
	20/09/13		BS-BM-BB		SA
	23/09/13		BS-BM-BB	MM	SA
	25/09/13		BS-BM-BB	MM	SA
	27/09/13*		BS-BM-BB	MM	SA
	30/09/13		BS-BM-BB	MM	SA
October 2013	02/10/13		BS-BM-BB	MM	SA
	10/10/13	AS			SA
	11/10/13		BS-BM-BB	MM	SA
	14/10/13*		BS-BM-BB	MM	SA
November 2013	26/11/13	AS			WS
	27/11/13		BS-BM-BB		WS
December 2013	09/12/13	AS			WS
	10/12/13		BS-BM-BB	MM	WS
March 2014	06/03/14	AS			WS
	07/03/14		BS-BM-BB		WS
	12/03/14		BS-BM-BB	MM	WS
	14/03/14*		BS-BM-BB	MM	WS
	17/03/14		BS-BM-BB	MM	WS
April 2014	03/04/14		BS-BM-BB	MM	WS
	22/04/14		BS-BM-BB	MM	WS
	23/04/14	AS			WS
May 2014	05/05/14		BS-BM-BB	MM	WS
	07/05/14		BS-BM-BB	MM	WS
	16/05/14	AS			WS
	19/05/14		BS-BM-BB	MM	WS
June 2014	18/08/14	AS			SA
	19/06/14		BS-BM-BB		SA

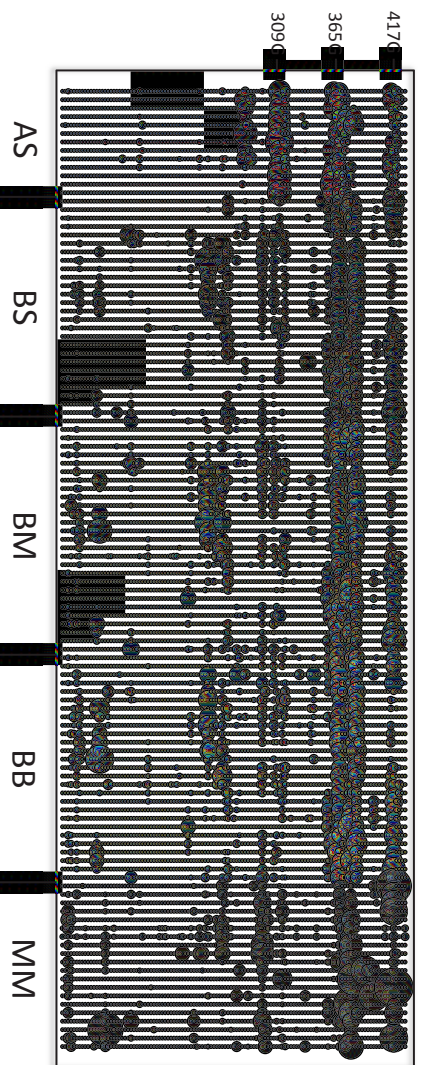
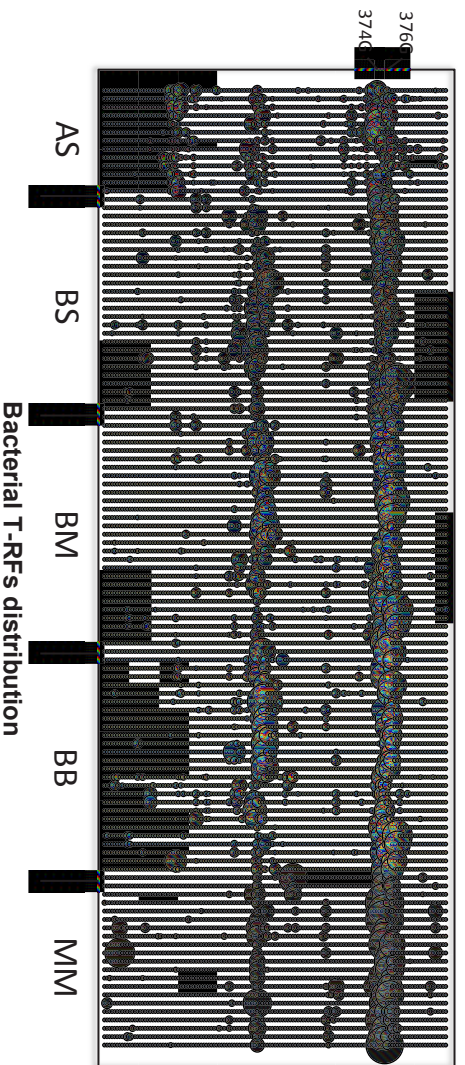
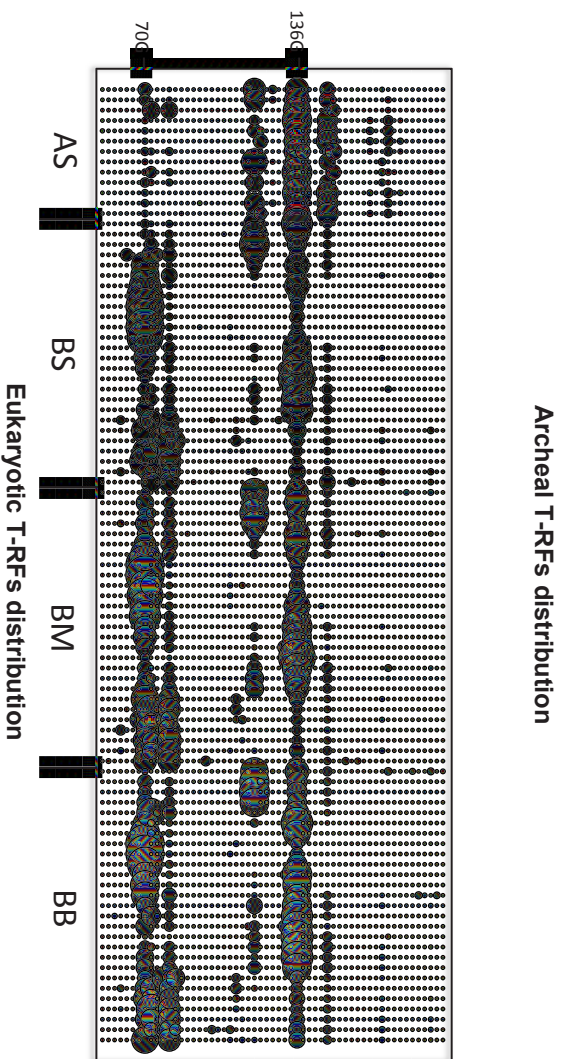


Figure S1 : Distribution on T-RFs. Adour River surface (AS) samples are in orange, Biarritz surface (BS) samples are in light blue, Biarritz at the maximum of chlorophyll *a* (BM) depth are in royal blue, Biarritz bottom seawaters (BB) are in dark blue and marine mucilage (MM) samples are in brown. Samples are represented in the chronologic order, from left to right. T-RFs revealed by the SIMPER-test are noted on the figure.

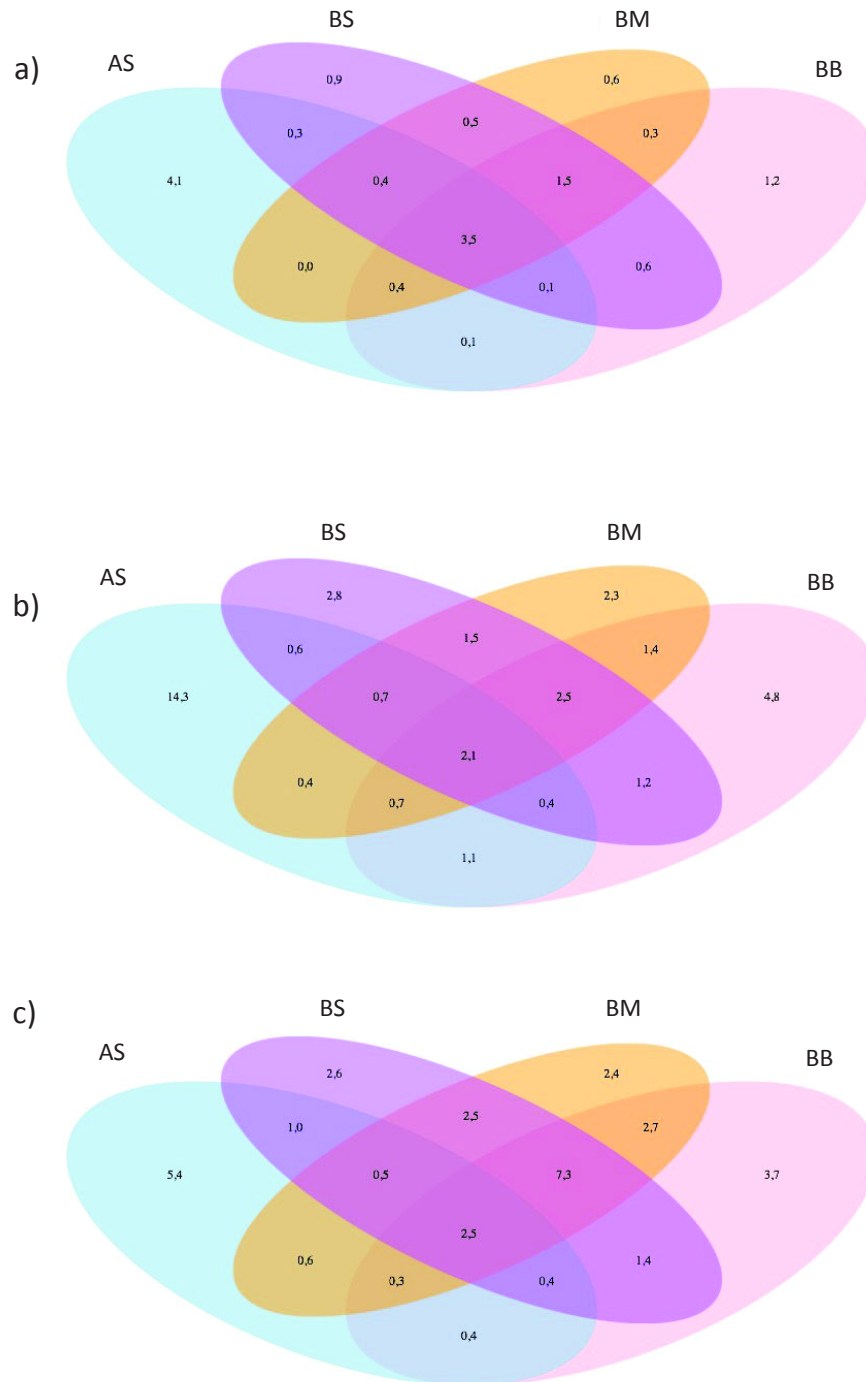


Figure S2: Venn diagrams indicating the average number of shared T-RFs of each couple of monthly samples of the Adour River freshwater and the Biarritz seawaters at the three deep studied. a) archaea, b) eukaryotes and c) bacteria. AS: Adour subsurface, BS: Biarritz surface, BM: Biarritz mix layer, BB: Biarritz bottom, MM: Biarritz marine mucilage.

3. Conclusion du chapitre

Nous avons mis en évidence dans ce premier chapitre que les communautés microbiennes du Liga étaient différentes des communautés de l'Adour et de l'eau de mer. Cependant, ces trois compartiments comportent des T-RF en commun, laissant suggérer que les microorganismes de l'Adour et de l'eau de mer sont capables de s'adapter à un autre mode de vie, le mode de vie agrégé dans le Liga. De plus, cette étude sur les communautés microbiennes de l'eau de mer et du Liga ont révélé que leur structure varie selon deux saisons, les saisons É-A et les saisons H-P, laissant suggérer que certains paramètres environnementaux aux profils de variation saisonnier pourraient avoir une influence sur la structure des communautés microbiennes de l'eau de mer et du Liga.

- Chapitre IV -

**Étude de la variation des communautés
microbiennes marines et des trois fractions
du Liga à Biarritz et Tarnos**

1. Introduction

Les études préliminaires conduites entre 2010 et 2012 avaient conclu que la zone maritime du sud de l'estuaire de l'Adour était plus impactée que la zone nord. En effet, le panache de l'Adour déviant vers la zone sud, celui-ci y apporte des nutriments en provenance des terres pouvant influencer la dynamique des communautés microbiennes marines et pouvant favoriser la formation de Liga. Afin de vérifier cette théorie, nous avons étendu l'étude des communautés microbiennes du Liga et de l'eau de mer environnante, présentée dans le chapitre précédent, à une deuxième station de prélèvements, celle de Tarnos. Pendant notre année de prélèvement, le Liga a été observé à ces deux stations de prélèvement à chaque fois qu'il s'est formé.

De plus, l'étude des MPM de mer Adriatique avait mis en évidence des communautés microbiennes différentes entre l'agrégat lui-même et son eau interstitielle (Del Negro et al., 2005; Totti et al., 2005). La différence de composition de ces deux compartiments avait deux raisons : (i) le mode de vie agrégé ou planctonique, et (ii) le rôle fonctionnel différent des microorganismes présents dans chaque compartiment. Ainsi dans ce chapitre nous étudierons aussi les trois fractions récoltées du Liga pour essayer de comprendre la dynamique des assemblages microbiens le composant dans les deux stations de prélèvement marines. Ces trois fractions sont les fractions agrégées, attachées et planctoniques. Sachant la fraction agrégée de MPM de mer Adriatique est plus enrichie en matière organique que l'eau de mer environnante (Bongiorni et al., 2007) et forme ainsi une niche protégée de l'environnement marin (Turk et al., 2010), est-ce que les communautés microbiennes des fractions attachées et planctoniques du Liga vont suivre elles aussi une dynamique saisonnière (cf. chapitre précédent) ou être plus stables sur les différentes apparitions du Liga, formant une sous-communauté se nourrissant de la fraction agrégée comme il est décrit dans Del Negro et al. (2005) ? En effet, dans le chapitre précédent, nous avons vu que la structure des communautés microbiennes marines et des communautés microbiennes de la fraction agrégée du Liga dépendait de paramètres environnementaux dont la variation est principalement saisonnière. Une différence significative entre les communautés microbiennes d'hiver et de printemps (H-P) et celles d'été et

d'automne (É-A) avait été observée pour tous les compartiments. Nous avons également constaté que les communautés microbiennes du Liga étaient significativement différentes de celles de l'Adour et de celles de l'eau de mer.

Dans ce chapitre nous allons comparer la structure des communautés microbiennes marines, de l'Adour et du Liga entre les deux stations de prélèvement marines. La dynamique des communautés microbiennes marines et du Liga sera comparée avec celle des communautés microbiennes de l'Adour afin de mettre en évidence d'éventuelles différences de dynamique ou de structure entre les communautés microbiennes de Tarnos et de Biarritz. Nous allons également identifier dans ce chapitre si les communautés microbiennes des trois fractions du Liga sont différentes. Nous avons émis l'hypothèse, dans le chapitre précédent, que la fraction agrégée du Liga pourrait être constituée de microorganismes eucaryotes de l'eau de mer environnante, dont les exsudats seraient colonisés par des bactéries opportunistes. De plus, nous avons vu que la diversité du Liga était réduite par rapport à la diversité observée en mer. Dans ce chapitre, nous regarderons donc comment s'organisent plus exactement les différents compartiments du Liga et de l'eau de mer dans les deux stations de prélèvement, et si la structure des communautés microbiennes présente des variations spatiales dans l'eau de mer et des variations de composition dans les différentes fractions du Liga.

Les résultats présentés dans ce chapitre proviennent des analyses T-RFLP. Les échantillons utilisés pour cette analyse sont listés dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1 : Échantillons présentés dans ce chapitre. Tous les échantillons ont été pris en compte, excepté l'échantillon de la fraction agrégé du Liga de Biarritz du 27 Septembre 2013 amplifié avec les amorces archées et l'échantillon d'eau de mer de surface du 16 Juillet 2013, qui, étant très différents de tous les autres échantillons, ont été retirés des analyses.

Type de prélèvement	Lieu de Prélèvement	Nature de l'échantillon	Type d'échantillon
Intensif Mensuel	Adour	Eau douce	Surface
	Biarritz	Eau de mer	Surface Maximum de Chl <i>a</i> Fond
		Liga	Agrégé Attaché Planctonique
	Tarnos	Eau de mer	Surface Maximum de Chl <i>a</i> Fond
		Liga	Agrégé Attaché Planctonique

2. Résultats

Pour tous nos prélèvements, lorsque le Liga a été présent, il l'était à la fois à Biarritz et à Tarnos. Ainsi nous n'avons pas pu obtenir nos échantillons selon le modèle prévu dans la pré-étude de Suspérregui et al. (2012), à savoir que la station « *Biarritz* » devait être fortement impactée par la présence de Liga tout au long de l'année alors que la station de « *Tarnos* » devait être plus faiblement impactée. Au vu de ces observations, nous avons considéré dans cette étude que les deux stations de prélèvement étaient autant impactées par la présence de Liga. De plus, les PCR réalisées sur les échantillons de Liga avec les amorces archées n'ont pas donné lieu à des amplifications. Ainsi, les communautés archées sont absentes de toutes les fractions du Liga, ou pas assez abondantes pour pouvoir y être amplifiées.

2.1. Similarités entre les communautés microbiennes

La similarité entre les communautés microbiennes des différents compartiments étudiés a été analysée par SIMPER-test.

2.1.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos

Le compartiment marin subissant le plus de variations dans la structure des communautés microbiennes au long de l'année à Tarnos est l'eau de mer de surface pour les trois domaines du vivant. Les communautés d'archées sont plus stables que les communautés eucaryotes de façon générale sur l'année. Alors que les communautés eucaryotes de l'eau de mer sont en général moins stables que les communautés bactériennes marines, celles de la fraction agrégée du Liga sont plus stables chez les eucaryotes que chez les bactéries (tableau IV.2). En dehors du fait que les communautés marines eucaryotes sont plus stables à Tarnos qu'à Biarritz, ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans l'étude des communautés microbiennes de Biarritz.

Tableau IV.2 : Pourcentage de similarité au sein des compartiments obtenus par SIMPER-test. AS : prélèvement de l'Adour en surface, TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer.

Archées		Bactéries		Eucaryotes	
TS	47,40%	TS	27,06%	TS	28,46%
TM	55,30%	TM	35,86%	TM	34,77%
TF	55,76%	TF	43,79%	TF	31,10%
		T60.Liga	31,85%	T60.Liga	37,26%

2.1.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga

Les fractions agrégées du Liga à Biarritz et à Tarnos ont la composition microbienne la plus similaire sur les différentes apparitions de Liga au long de l'année. Les communautés bactériennes des fractions attachées et planctoniques présentent également une forte similarité à Biarritz et à Tarnos, alors que les communautés eucaryotes des fractions attachées et planctoniques ont une plus faible similarité (tableau IV.3).

Tableau IV.3 : Pourcentages de similarité au sein des différentes fractions du Liga obtenus par SIMPER-test. B60.Liga et T60.Liga : fractions agrégées du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos, B5.Liga et T5.Liga : fractions attachées du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos, B0.2.Liga et T0.2.Liga : fractions planctoniques du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos.

Eucaryotes		Bactéries	
B60.Liga	36,84%	B60.Liga	28,24%
B5.Liga	21,11%	B5.Liga	35,17%
B0.2.Liga	21,71%	B0.2.Liga	35,19%
T60.Liga	37,26%	T60.Liga	31,85%
T5.Liga	22,22%	T5.Liga	26,78%
T0.2.Liga	31,01%	T0.2.Liga	31,87%

2.2. Analyse de la diversité alpha

2.2.1 Communautés microbiennes marines de Tarnos

La diversité des communautés d'archées marine à Tarnos est faible. Elle est équivalente dans les trois compartiments marins et dans l'eau de l'Adour (figure IV.1, tableau IV.4). La diversité eucaryote est plus élevée que celle des archées dans tous les compartiments. Aucune différence significative de diversité n'est constatée entre les différents compartiments marins pour les communautés eucaryotes. La diversité observée dans le Liga est significativement plus faible que celle de l'eau de mer de fond et de l'eau de mer à la PMCa ($p < 0,01$). Au contraire, la diversité eucaryote de l'Adour est significativement plus élevée que celle des trois compartiments de l'eau de mer ($p < 0,05$). Les indices de diversité les plus élevés sont retrouvés pour les communautés bactériennes, dans tous les compartiments. Comme pour les communautés eucaryotes, la diversité observée dans le Liga est significativement plus faible que celle des trois compartiments marins ($p < 0,01$). De même, la diversité bactérienne de l'Adour est significativement plus élevée que celle de l'eau de mer ($p < 0,001$).

La diversité des communautés microbiennes de Tarnos est légèrement plus élevée que la diversité des communautés microbiennes de Biarritz dans les trois domaines du vivant.

Tableau IV.4 : Indices de diversité de Shannon pour les différents compartiments (indices moyennés sur l'ensemble des échantillons pour chaque fraction). TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer.

	TS	TM	TF	T60.Liga
Archées	1,43±0,30	1,51±0,38	1,36±0,41	n.d.
Eucaryotes	1,84±0,45	2,00±0,51	2,11±0,33	1,40±0,23
Bactéries	2,53±0,31	2,56±0,26	2,62±0,24	2,04±0,33

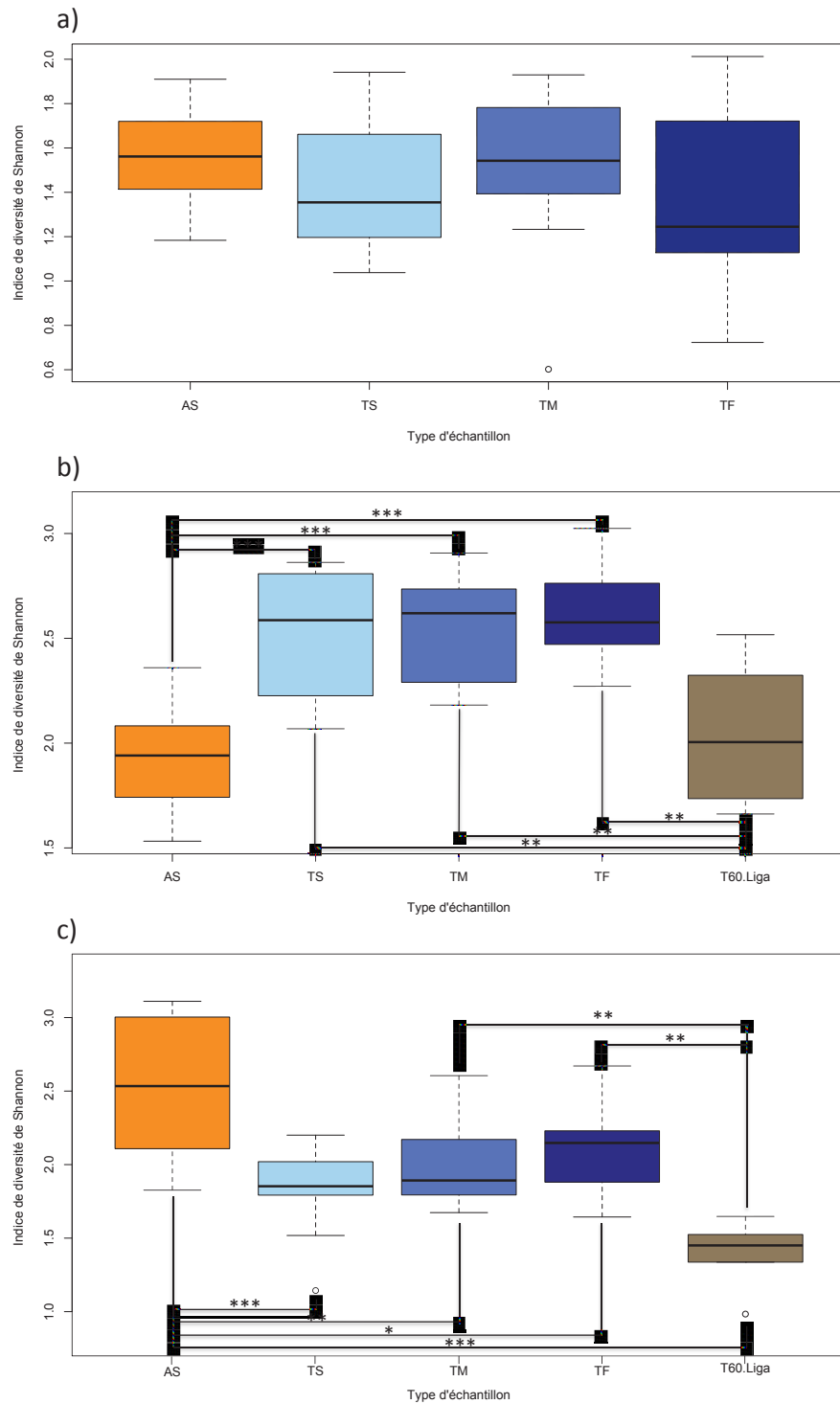


Figure IV.1 : Boîtes à moustaches représentant la distribution des indices de Shannon des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et du Liga. La partie colorée représente la distribution des indices de Shannon entre le premier et le troisième quartile pour chaque type de prélèvement. Les barres à l'extérieur des boîtes indiquent l'erreur standard et la barre à l'intérieur des boîtes représente la médiane des indices de Shannon. Les différences entre les moyennes des indices de Shannon entre les différents types de prélèvement a été testée par un test de Tukey HSD. a) : communautés archées, b) communautés bactériennes, c) communautés eucaryotes. AS : prélèvement de l'Adour en surface, TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, T60.Liga : prélèvement de la fraction agrégée du Liga à Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

2.2.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga

La diversité des trois fractions du Liga est plus faible que la diversité de l'eau de mer pour les deux stations de prélèvement pour les communautés eucaryotes et les communautés bactériennes. La diversité moyenne de chaque fraction de Liga dans les deux stations de prélèvement est plus élevée pour les communautés bactériennes que pour les communautés eucaryotes (tableau IV.5). L'analyse la diversité spécifique des différentes fractions du Liga via l'indice de Shannon n'a révélé aucune différence de diversité entre les trois fractions du Liga, pour aucune communauté microbienne, ni à Biarritz ni à Tarnos (figure IV.2).

Tableau IV.5 : Indices de diversité de Shannon pour chaque fraction du Liga de Biarritz et de Tarnos (indices moyennés sur l'ensemble des échantillons pour chaque fraction).

	B60.Liga	B5.Liga	B0.2.Liga	T60.Liga	T5.Liga	T0.2.Liga
Eucaryotes	1,41±0,62	1,58±0,61	1,77±0,42	1,40±0,23	1,74±0,49	1,74±0,24
Bactéries	2,03±0,62	2,10±0,51	2,29±0,29	2,04±0,33	2,25±0,53	2,38±0,19

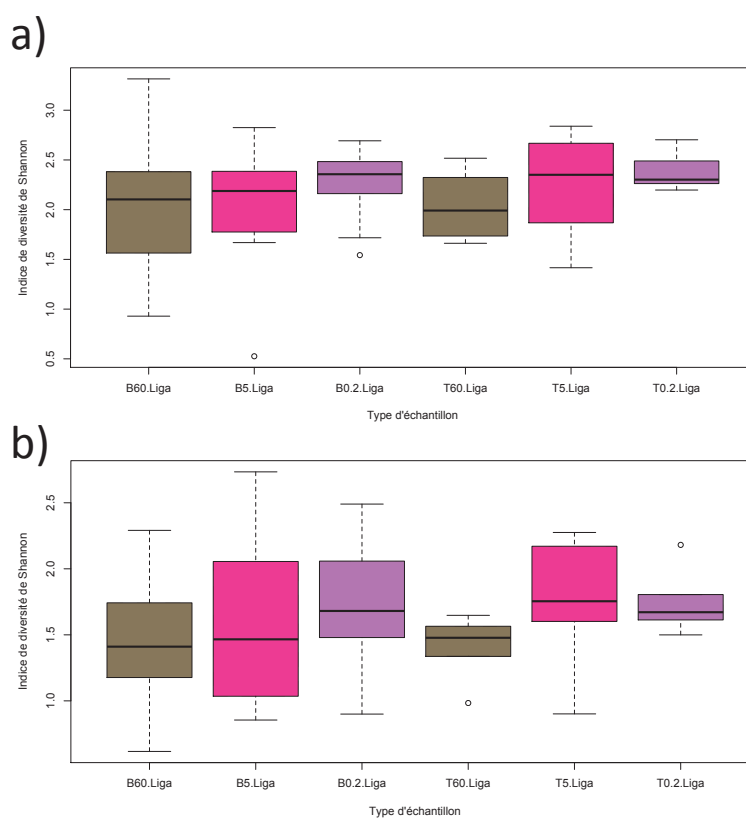


Figure IV.2 : Boîtes à moustaches représentant la distribution des indices de Shannon des communautés bactériennes et eucaryotes des différentes fractions du Liga. a) Communautés bactériennes, b) Communautés eucaryotes. La partie colorée représente la distribution des indices de Shannon entre le premier et le troisième quartile pour chaque type de prélèvement. Les barres à

l'extérieur des boîtes indiquent l'erreur standard et la barre à l'intérieur des boîtes représente la médiane des indices de Shannon. Les différences entre les moyennes des indices de Shannon entre les différents types de prélèvement ont été testées par un test de Tukey HSD et aucune différence significative n'a été observée. B60.Liga et T60.Liga : fractions agrégées du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos, B5.Liga et T5.Liga : fractions attachées du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos, B0.2.Liga et T0.2.Liga : fractions planctoniques du Liga respectivement de Biarritz et de Tarnos.

2.3. Variation des communautés du Liga à Biarritz et à Tarnos

2.3.1. Variation générale

2.3.1.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos

Pour les trois domaines du vivant, il n'y a pas de différences significatives dans la composition des communautés microbiennes marines de Tarnos (tableau IV.6). La distribution des communautés microbiennes est significativement différente dans l'Adour par rapport aux trois compartiments marins pour les trois domaines du vivant. De même, les communautés microbiennes du Liga sont significativement différentes de l'Adour pour les bactéries et pour les eucaryotes. Alors que les communautés bactériennes du Liga sont très significativement différentes des trois compartiments marins étudiés, cette différence est moins marquée entre les communautés eucaryotes du Liga et celles de l'eau de mer à la PMCa et l'eau de mer du fond. De plus, les communautés eucaryotes de surface ne sont pas significativement différentes des communautés eucaryotes de l'eau de mer en surface.

Des résultats similaires ont été obtenus sur l'étude des communautés microbiennes de Biarritz.

Tableau IV.6 : Analyse de la variance des T-RF entre les prélèvements d'eau de mer, de l'Adour, et de la fraction agrégée du Liga par PERMANOVA. AS : prélèvement de l'Adour en surface, TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, T60.Liga : fraction agrégée du Liga de Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P = 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

Archées					
	AS	TS	TM	TF	
AS	/				
TS	**	/			
TM	***	n.s.	/		
TF	***	n.s.	n.s.	/	

Bactéries					
	AS	TS	TM	TF	T60.Liga
AS	/				
TS	***	/			
TM	***	n.s.	/		
TF	***	n.s.	n.s.	/	
T60.Liga	***	**	**	***	/

Eucaryotes					
	AS	TS	TM	TF	T60.Liga
AS	/				
TS	***	/			
TM	***	n.s.	/		
TF	***	n.s.	n.s.	/	
T60.Liga	***	n.s.	*	**	/

2.3.1.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga

Les variations entre les différentes fractions à chaque station de prélèvement ont été testées par PERMANOVA (tableau IV.7). Pour les communautés bactériennes et les communautés eucaryotes, aucune différence significative n'est observée entre les fractions identiques de Biarritz et de Tarnos. De plus, aucune différence significative n'est observée entre les différentes fractions du Liga de Tarnos. En revanche, les communautés bactériennes et eucaryotes de la fraction agrégée sont significativement différentes des deux autres fractions du Liga. Une différence significative est également observée entre la fraction attachée et la fraction planctonique du Liga chez les bactéries, mais pas chez les eucaryotes.

Tableau IV.7 : Analyse de la variance des T-RF des prélèvements des différentes fractions de Liga par PERMANOVA. Les comparaisons entre les différentes fractions de Liga de Biarritz se trouvent dans les cases vertes, celles de Tarnos sont dans les cases marron et les cases grises représentent la comparaison de chaque fraction entre Biarritz et Tarnos. B60.Liga et T60.Liga :

fractions agrégées du Liga de Biarritz et de Tarnos, B5.Liga et T5.Liga : fractions attachées du Liga de Biarritz et de Tarnos, B0.2.Liga et T0.2.Liga : fractions planctoniques du Liga de Biarritz et de Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

	Bactéries						Eucaryotes					
	B60.Liga	B5.Liga	B0.2.Liga	T60.Liga	T5.Liga	T0.2.Liga	B60.Liga	B5.Liga	B0.2.Liga	T60.Liga	T5.Liga	T0.2.Liga
B60.Liga	/						/					
B5.Liga	**	/					***	/				
B0.2.Liga	***	***	/				***	n.s.	/			
T60.Liga	n.s.	n.s.	*	/			n.s.	**	*	/		
T5.Liga	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	/		*	n.s.	n.s.	n.s.	/	
T0.2.Liga	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	/	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	/

2.3.2. Variation saisonnière

2.3.2.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos

Les tests de PERMANOVA n'ont révélé aucune variation saisonnière significative entre les communautés eucaryotes marines des saisons H-P et É-A à Tarnos (tableau IV.8). Concernant les communautés archées, aucune variation saisonnière significative n'est constatée entre les communautés des saisons H-P et É-A de l'eau de mer en surface et à la PMCa. En revanche, les communautés archées du fond de l'eau sont significativement différentes entre les deux saisons H-P et É-A. Les communautés bactériennes du Liga et de l'eau de mer en surface ne sont pas non plus différentes selon les saisons alors que les communautés bactériennes d'eau de mer à la PMCa et au fond sont significativement différentes selon les deux saisons H-P et É-A. Cependant, malgré l'absence de différences significatives pour certaines communautés microbiennes selon les saisons H-P et É-A, l'analyse en PCoA révèle une structure des communautés microbiennes différente pour les deux saisons (sachant que ces PCoA expliquent 62,1% de la variabilité biologique pour les archées, 34,5% pour les eucaryotes et 33,2% pour les bactéries, figure IV.3).

Dans les prélèvements de Biarritz, nous avons constaté une différence significative entre les deux saisons dans tous les compartiments étudiés, pour les trois domaines du vivant.

Tableau IV.8 : Analyse de la variance des T-RF des prélèvements d'eau de mer et de la fraction agrégée du Liga pour les périodes Hiver-Printemps et Été-Automne par PERMANOVA. TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, T60.Liga : fraction agrégée du Liga de Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

Archées		Bactéries		Eucaryotes	
TS	n.s.	TS	n.s.	TS	n.s.
TM	n.s.	TM	*	TM	n.s.
TF	*	TF	**	TF	n.s.
		T60.Liga	n.s.	T60.Liga	n.s.

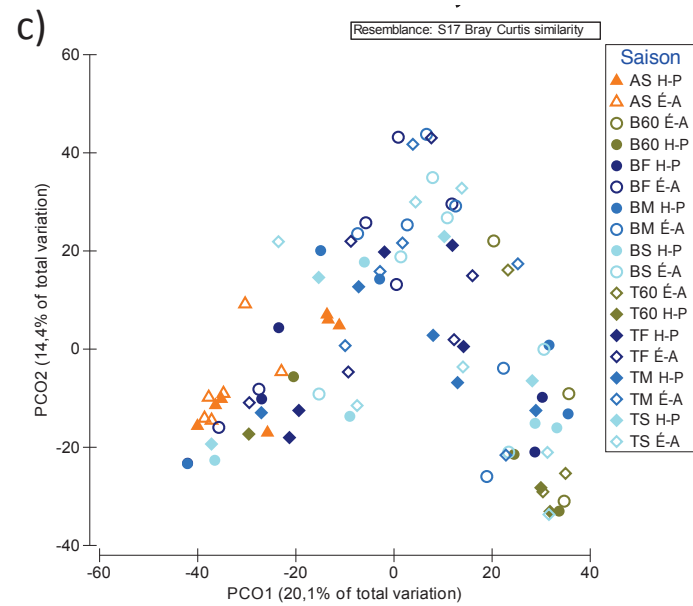
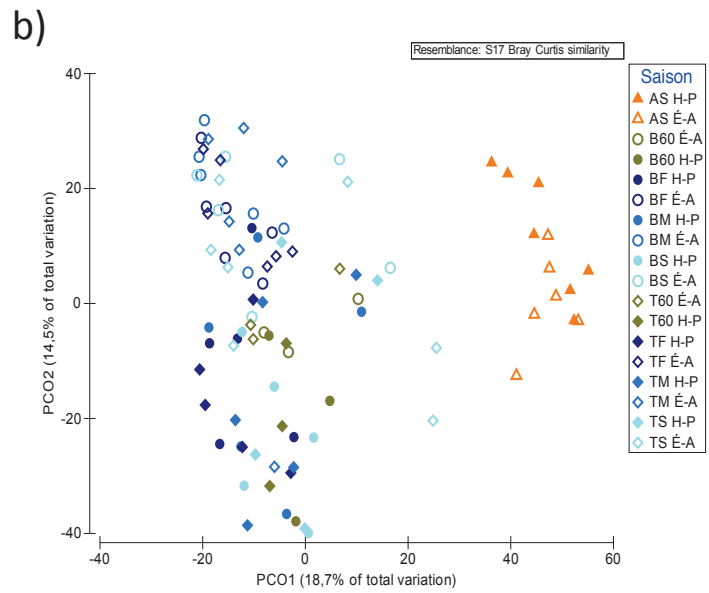
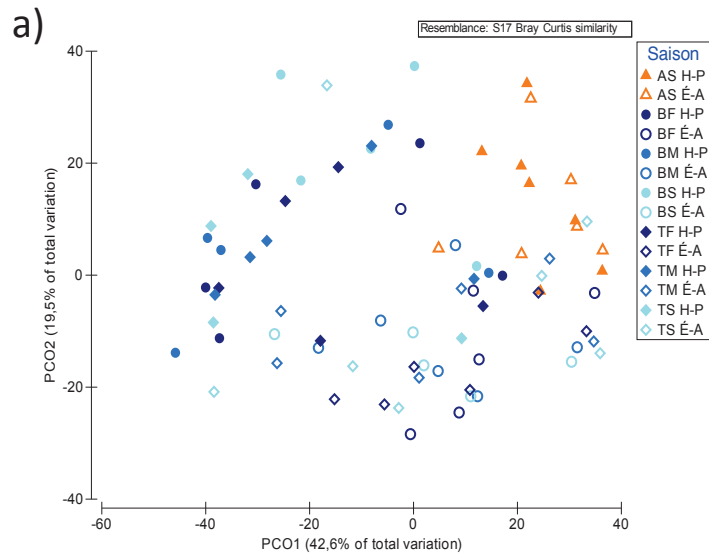


Figure IV.3 : Analyse en PCoA des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer et de la fraction agrégée du Liga à Biarritz et à Tarnos. a) Communautés archées. b) Communautés bactériennes. c) Communautés eucaryotes. AS : prélèvement de l'Adour en surface, TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, B60 et T60.Liga : fractions agrégées du Liga de Biarritz et de Tarnos, É-A : saison d'apparition du Liga été-automne et H-P : saison d'apparition du Liga hiver-printemps.

2.3.2.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga

Les communautés bactériennes et eucaryotes des trois fractions du Liga de Tarnos ne présentent aucune différence selon les saisons É-A et H-P. À l'inverse, des différences significatives selon les saisons É-A et H-P sont observées dans toutes les fractions du Liga de Biarritz pour les communautés eucaryotes, et dans les fractions agrégées et planctoniques pour les communautés bactériennes (tableau IV.9).

Tableau IV.9 : Analyse de la variance des T-RF des prélèvements des différentes fractions de Liga par PERMANOVA entre les deux saisons d'apparition du Liga (H-P et É-A). B60.Liga et T60.Liga : fractions agrégées du Liga de Biarritz et de Tarnos, B5.Liga et T5.Liga : fractions attachées du Liga de Biarritz et de Tarnos, B0.2.Liga et T0.2.Liga : fractions planctoniques du Liga de Biarritz et de Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

Bactéries		Eucaryotes	
B60.Liga	**	B60.Liga	*
B5.Liga	n.s.	B5.Liga	***
B0.2.Liga	***	B0.2.Liga	***
T60.Liga	n.s.	T60.Liga	n.s.
T5.Liga	n.s.	T5.Liga	n.s.
T0.2.Liga	n.s.	T0.2.Liga	n.s.

Les communautés microbiennes de Tarnos ne présentant pas de variations, les communautés microbiennes des différentes fractions du Liga de Biarritz, pour les saisons H-P et É-A et pour les communautés eucaryotes et bactériennes, ont été représentées par des PCoA expliquant respectivement 44,84% et 30,70% de la variabilité biologique de ces communautés (figure IV.4). Cette figure, montre effectivement la séparation des échantillons selon les saisons.

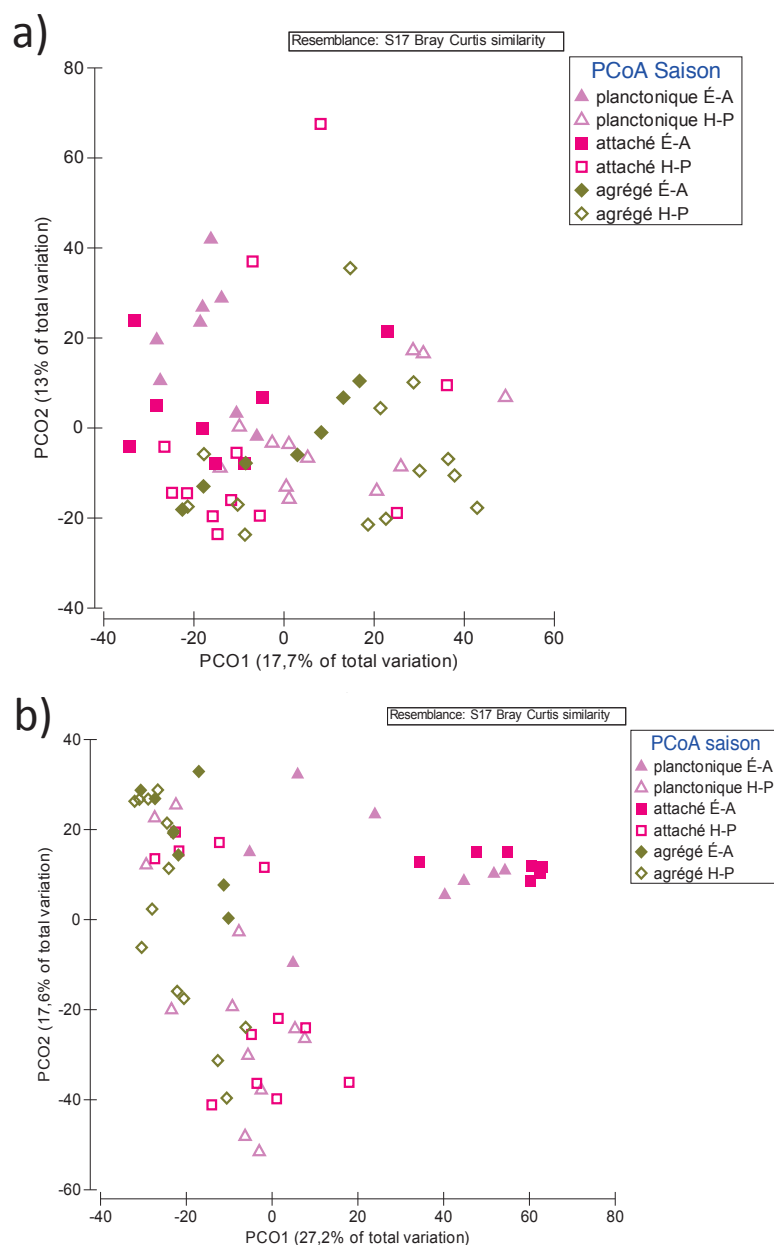


Figure IV.4 : Analyse en PCoA des communautés eucaryotes des différentes fractions du Liga à Biarritz. a) Communautés bactériennes. Les deux axes représentés ici expliquent 44,84% de la variation observée entre les différents échantillons. b) Communautés eucaryotes. Les deux axes représentés ici expliquent 30,7% de la variation observée entre les différents échantillons. É-A : saison d'apparition du Liga été-automne et H-P : saison d'apparition du Liga hiver-printemps.

2.4. Structure des communautés microbiennes

2.4.1. Communautés microbiennes marines de Tarnos

La distribution des T-RF des communautés microbiennes des trois domaines du vivant à Tarnos ressemble à celle observée à Biarritz. L'abondance relative des T-

RF entre Biarritz et Tarnos est très similaire. Dans les profils T-RFLP archées, le T-RF 136G est le plus abondant et est abondant dans tous les compartiments. Les T-RF 126G et 151G sont plus abondants dans l'Adour, alors que les T-RF 70G et 77G sont plutôt présents dans les trois compartiments marins. Le T-RF 77G est d'ailleurs un T-RF indicateur des communautés archées marines (le tableau des T-RF indicateurs des communautés microbiennes marines de Tarnos est donné tableau IV.10). Les T-RF archées 70G, 77G, 126G et 136G sont, comme à Biarritz, dans les cinq T-RF archées les plus abondants (figure IV.5.a).

Dans les profils de T-RFLP bactériens, le T-RF 365G est le plus abondant et est abondant dans tous les compartiments. Les T-RF 286G, 309G et 363G sont plus abondants dans l'Adour, alors que les T-RF 297G, 369G, 370G et 371G sont plutôt présents dans les trois compartiments marins. Il n'y a pas de T-RF bactérien très abondant dans le Liga sur toute l'année. De plus, les T-RF 286G, 309G et 416G sont absents du Liga. Les T-RF 309G et 371G sont des T-RF indicateurs de l'Adour et de l'eau de mer à Tarnos respectivement. Les T-RF bactériens les plus abondants à Tarnos sont les mêmes que les T-RF les plus abondant de Biarritz, en dehors des T-RF 286G, 370G et 416G qui ont une abondance relative plus faible à Biarritz (figure IV.5.b).

Dans les profils de T-RFLP eucaryotes, le T-RF 376G est le plus abondant. Ce T-RF est peu abondant dans l'Adour, mais très abondant dans l'eau de mer. Ce T-RF est le plus abondant du Liga à Tarnos tout au long de l'année et représente en moyenne 32% de l'abondance totale. Le T-RF 265G, absent dans l'Adour et dans le Liga, est un T-RF indicateur des trois compartiments marins. Les T-RF 221G, 265G et 280G sont absents du Liga. Le T-RF 374G est le plus abondant dans l'Adour et est un T-RF indicateur de ce compartiment. Les T-RF 277G, 376G et 378G sont les T-RF les plus abondant des trois compartiments marins. Les T-RF eucaryotes les plus abondants à Tarnos sont les mêmes que les T-RF les plus abondant de Biarritz, en dehors des T-RF 221G et 266G qui ont une abondance relative plus faible à Biarritz (figure IV.5.c).

Aucune différence significative n'est observée dans les profils de T-RFLP entre chaque compartiments de Biarritz et de Tarnos lorsqu'ils sont comparés deux à deux (PERMANOVA, $P=0,001$).

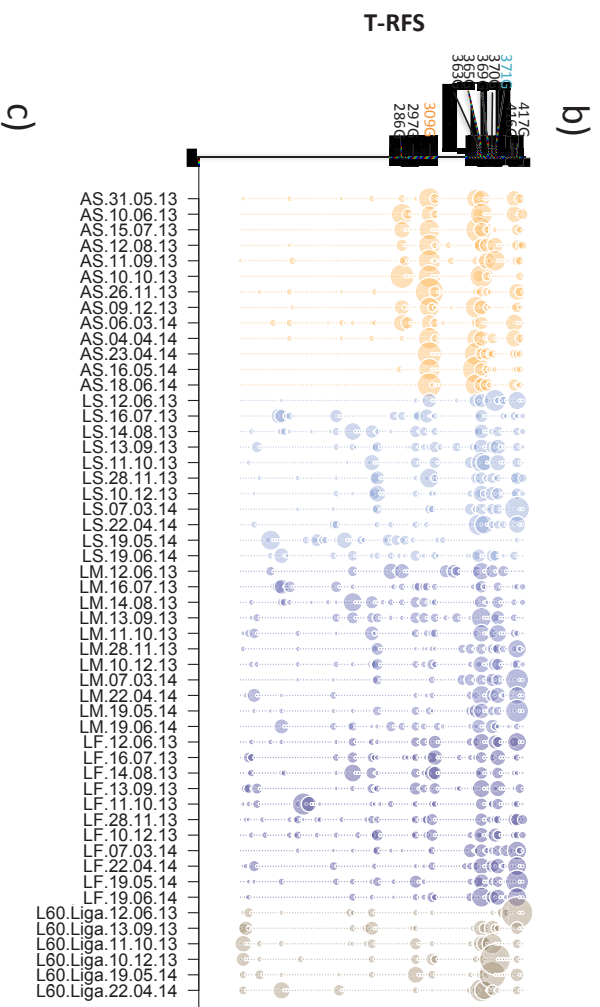
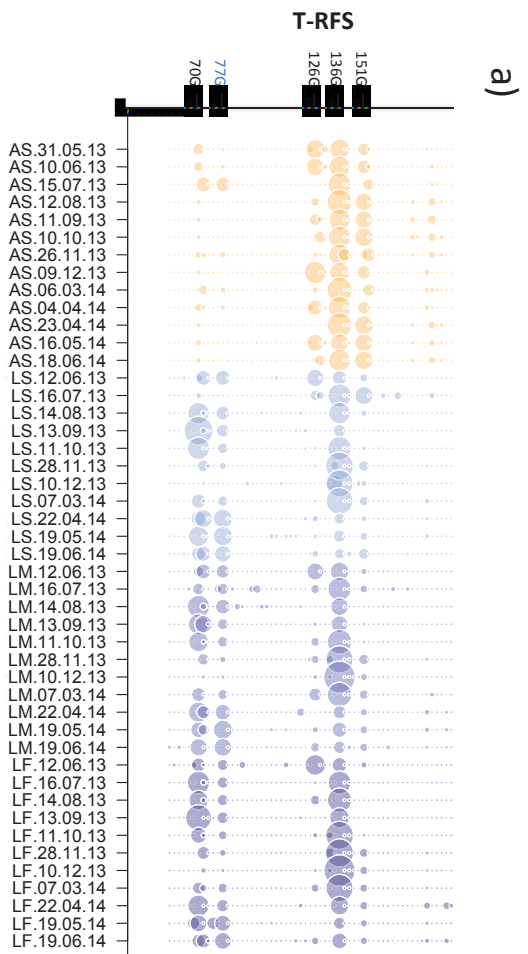


Figure IV.5 : Répartition des T-RF des communautés microbiennes de l'Adour, de l'eau de mer à Tarnos et de la fraction agrégée du Liga de Tarnos. a) Communautés archées. Les cinq T-RF les plus abondants sont représentés sur l'axe des ordonnées. Le T-RF 77G, en bleu, est un T-RF indicateur des communautés archées de l'eau de mer. Ce T-RF indicateur est commun aux trois profondeurs de prélèvement. b) Communautés bactériennes. Les dix T-RF les plus abondants sont représentés sur l'axe des ordonnées. Le T-RF 265G, en bleu, est un T-RF indicateur des communautés eucaryotes de l'eau de mer. Ce T-RF indicateur est commun aux trois profondeurs de prélèvement. Le T-RF 374G, en orange, est un T-RF indicateur des communautés eucaryotes de l'Adour. c) Communautés eucaryotes. Les dix T-RF les plus abondants sont représentés sur l'axe des ordonnées. Le T-RF 371G, en bleu, est un T-RF indicateur des communautés bactériennes de l'eau de mer. Ce T-RF indicateur est commun aux trois profondeurs de prélèvement. Le T-RF 371G, en bleu, est un T-RF indicateur des communautés bactérienne de l'eau de mer. Ce T-RF indicateur est commun aux trois profondeurs de prélèvement. Le T-RF 309G, en orange, est un T-RF indicateur des communautés bactériennes de l'Adour. Sur l'axe des abscisses, les prélèvements sont classés par groupes et par ordre chronologique de prélèvement de gauche à droite. AS : prélèvement de l'Adour en surface, LS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, LM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, LF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, L60.Liga : fraction agrégée du Liga de Tarnos.

Tableau IV.10 : T-RF indicateurs pour les différents compartiments des prélèvements de Tarnos et de l'Adour. AS : prélèvement de l'Adour en surface, TS : prélèvement de Tarnos en surface en mer, TM : prélèvement de Tarnos à la PMCa en mer, TF : prélèvement de Tarnos au fond de l'eau de mer, T60.Liga : fraction agrégée du Liga de Tarnos. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.d. indique que les T-RF indicateurs n'ont pas pu être déterminés.

	AS										TS	TM	TF
Archées	127G *	129G **	152G **	246G ***	276G ***	351G ***					/	/	/
Eucaryotes	219G ***	228G *	229G **	274G **	359G **	362G ***	368G ***	374G ***	384G *		/	/	/
Bactéries	204G *	309G ***	367G **	418G ***							/	/	/

	Eau de mer					T60.Liga				
Archées	71G *	77G ***				n.d.				
Eucaryotes	231G *	263G *	265G **			294G *				
Bactéries	200G **	244G *	245G ***	307G **	371G ***	62G ***	85G **	201G *	225G *	241G *

2.3.2. Communautés microbiennes des différentes fractions du Liga

Étant donnée le peu de variations observées dans les communautés des différentes fractions du Liga à Tarnos, seules les communautés microbiennes des trois fractions du Liga de Biarritz ont été considérées ici.

La distribution des T-RF est visiblement différente entre la fraction agrégée du Liga et les deux autres fractions pour les communautés bactériennes (figure IV.6). Les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga sont caractérisées par la présence de T-RF dominants, représentant jusqu'à 76% de l'abondance relative. Le T-RF bactérien le plus abondant dans les trois fractions du Liga est le T-RF 369G. Dans la fraction agrégée du Liga du mois de Juin 2013, le T-RF 417G est le T-RF

dominant les communautés bactériennes représentant en moyenne 41% de l'abondance relative. Les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga de la saison É-A sont dominées par le T-RF 369G qui représente 13% de l'abondance relative dans les échantillons.

Curieusement, les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga du printemps 2014 sont d'abord dominées par le T-RF 417G pour le premier prélèvement (du 12 Mars 2014) où il représente 76% de l'abondance relative et ensuite les communautés bactériennes sont de nouveau dominées par le T-RF 369G qui représente en moyenne 26% de l'abondance relative. Les communautés bactériennes du Liga sont gouvernées tout au long de l'année de prélèvements par ce même T-RF 369G. Les communautés bactériennes de la fraction planctonique du Liga sont dominées principalement par deux T-RF tout au long de l'année, les T-RF 365G et 371G, qui représentent tous les deux 21% de l'abondance relative moyenne. Le T-RF 371G est d'ailleurs un T-RF indicateur de la fraction planctonique bactérienne du Liga (voir tableau IV.11 pour la liste des T-RF indicateurs). Nous avons également observé deux T-RF bactériens de la fraction planctonique du Liga ayant un comportement saisonnier. En effet le T-RF 417G est plus abondant dans les communautés bactériennes dans la fraction planctonique de Juin 2013 représentant en moyenne 15% de l'abondance relative et que le T-RF 226G est plus abondant de la saison É-A, représentant en moyenne 18% de l'abondance relative et le T-RF 417G est également le T-RF le plus abondant au printemps 2014, représentant en moyenne 25% de l'abondance relative.

Les communautés eucaryotes du Liga sont dominées par les T-RF 376G et 280G qui peuvent représenter respectivement 80% et 77% de l'abondance relative totale. Dans la fraction agrégée du Liga, nous n'avons pas observé de T-RF ayant un comportement saison-dépendant. LE T-RF 376G est le plus abondant de cette fraction, représentant en moyenne 36% de l'abondance relative. Les deux autres T-RF abondant de cette fraction sont les T-RF 277G et 375G, représentant en moyenne 11% de l'abondance relative. Dans la fraction attachée, nous constatons trois types de distributions des T-RF eucaryotes selon les saisons. En effet, la fraction attachée du Liga de Juin 2013 est dominée par le T-RF 376G qui représente 27% de l'abondance relative moyenne, alors qu'à la saison É-A cette fraction est dominée par les T-RF 280G et 281G, qui représentent respectivement 51% et 18%

de l'abondance relative, et au Printemps 2014 cette fraction est dominée par les T-RF 276G, 277G et 377G qui représentent 16% , 11% et 9% de l'abondance relative respectivement. La dynamique des communautés eucaryotes de la fraction planctonique est également saisonnière, avec les T-RF 376G, 375G et 276G qui sont les T-RF les plus abondant pour la saison H-P (groupant Juin 2013 et le Printemps 2014) avec respectivement 14%, 11% et 9% d'abondance relative et les T-RF 280G, 376G et 277G qui sont les T-RF les plus abondants pour la saison É-A avec respectivement 30%, 12% et 11% d'abondance relative. Nous pouvons remarquer que le T-RF 280G est le plus abondant des communautés eucaryotes dans les fractions attachée et planctonique du Liga de la saison É-A. De plus, ce T-RF est un T-RF indicateur des communautés eucaryotes pour ces deux fractions (voir tableau IV.11 pour la liste des T-RF indicateurs).

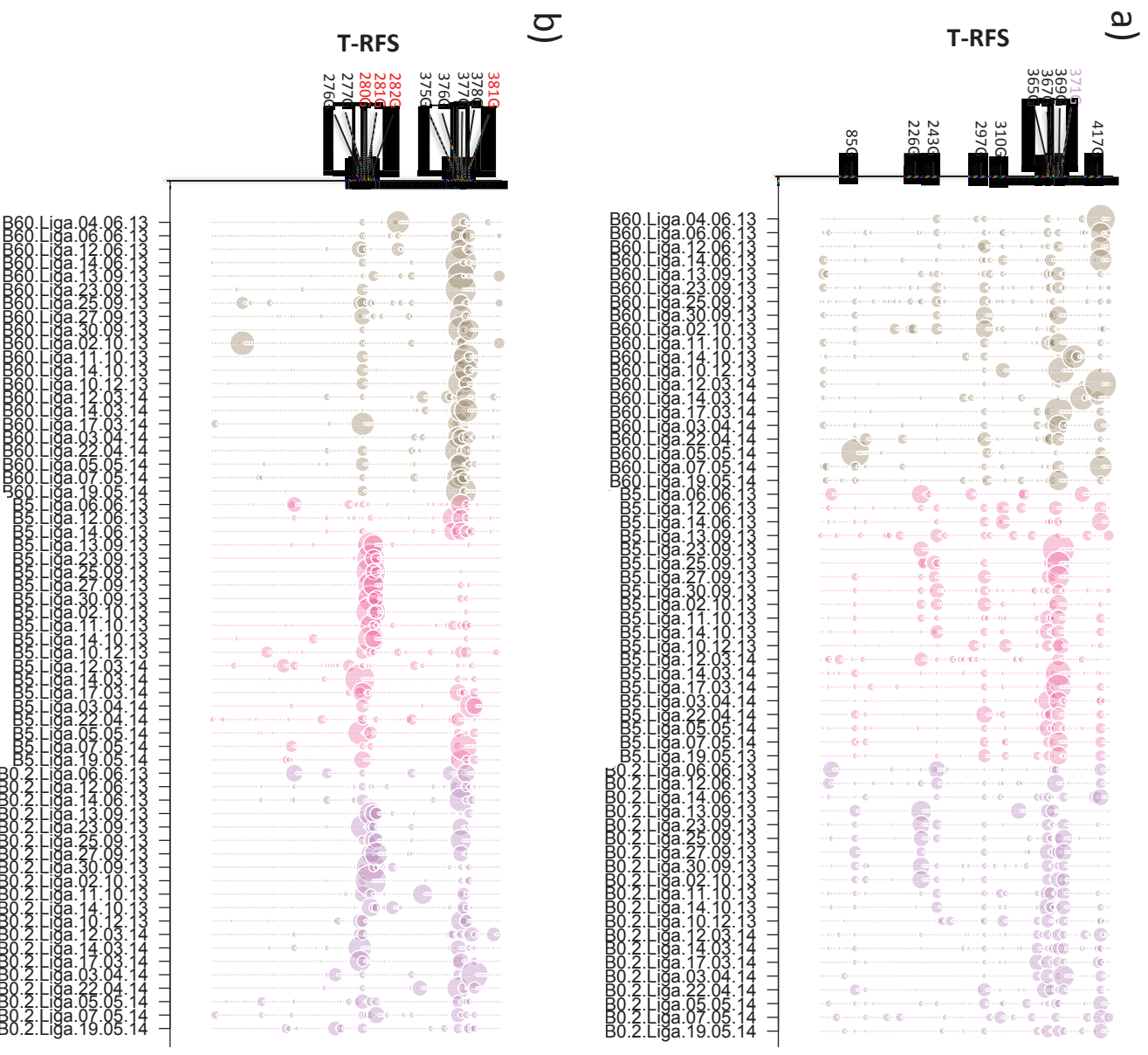


Figure IV.6 : Répartition des T-RFs des communautés bactériennes des différentes fractions du Liga à Biarritz. Les dix T-RFs les plus abondants sont représentés dans la légende sur l'axe des ordonnées. a) Communautés bactériennes. Le T-RF 371G, en mauve, est un T-RF indicateur des communautés de la fraction planctonique du Liga. b) Communautés eucaryotes. Les T-RF 280G, 281G, 282G et 380G, en rouge, sont des T-RF indicateurs à la fois des communautés de la fraction attachée et de la fraction planctonique du Liga. Sur l'axe des abscisses, les prélèvements sont classés par groupes et par ordre chronologique de prélèvement de gauche à droite. B60.Liga : fraction agrégée du Liga de Biarritz, B5.Liga : fraction attachée du Liga de Biarritz, B0.2.Liga : fraction planctonique du Liga de Biarritz.

Tableau IV.11 : Tableau représentant les T-RF indicateurs des différentes fractions du Liga pour les communautés bactériennes et eucaryotes.

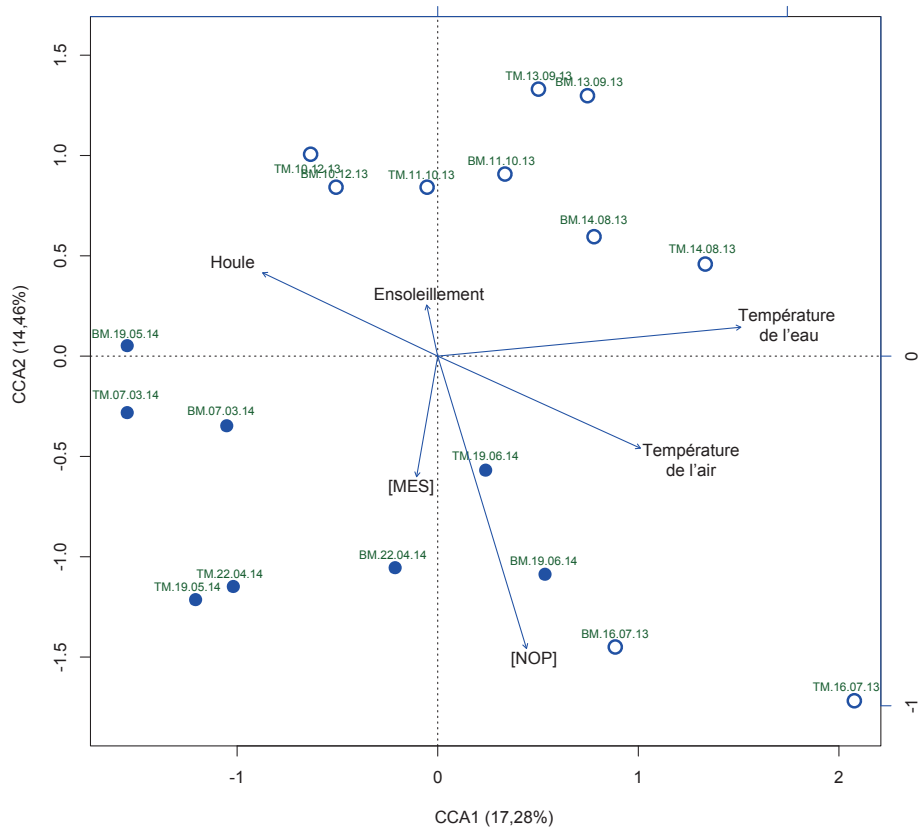
	Fractions du Liga	Agrégée			Attachée	Planctonique		Agrégé et attachée	Agrégée et planctonique	Attachée et planctonique				
Bactéries	T-RFs	62G	63G	201G	242G	345G	371G	/	/	226G				
	p-value	***	*	**	*	*	***	/	/	***				
Eucaryotes	T-RFs	400G			269G	373G	372G	/	/	221G	280G	281G	282G	381G
	p-value	*			*	*	*	/	/	*	***	*	**	*

2.5. Influence des paramètres environnementaux sur la structure des communautés microbiennes de Biarritz et de Tarnos à la PMCa

L'effet des paramètres environnementaux sur les communautés microbiennes de Biarritz et de Tarnos a été testé par CCA. Pour les communautés bactériennes et les communautés eucaryotes, les échantillons de Biarritz et de Tarnos à la même date se regroupent ensemble. En effet, l'axe CCA 2 sépare les communautés bactériennes de l'eau de mer à la PMCa selon les saisons H-P et É-A. Parmi les facteurs mesurés, la structure des communautés bactériennes de la saison É-A s'explique principalement par la hauteur de houle, la durée d'ensoleillement quotidienne et la température de l'eau de mer. La structure des communautés bactériennes de la saison H-P s'explique principalement par la concentration en MES et de NOP dans l'eau de mer (figure IV.7.a).

L'axe CCA 1 sépare les communautés eucaryotes de l'eau de mer à la PMCa selon les saisons H-P et É-A. Les communautés eucaryotes de la saison É-A s'organisent principalement selon la concentration en phosphates et la température de l'air. Les communautés eucaryotes de la saison H-P sont dirigées principalement par la concentration en COP et les débits de l'Adour (figure IV.7.b).

a)



b)

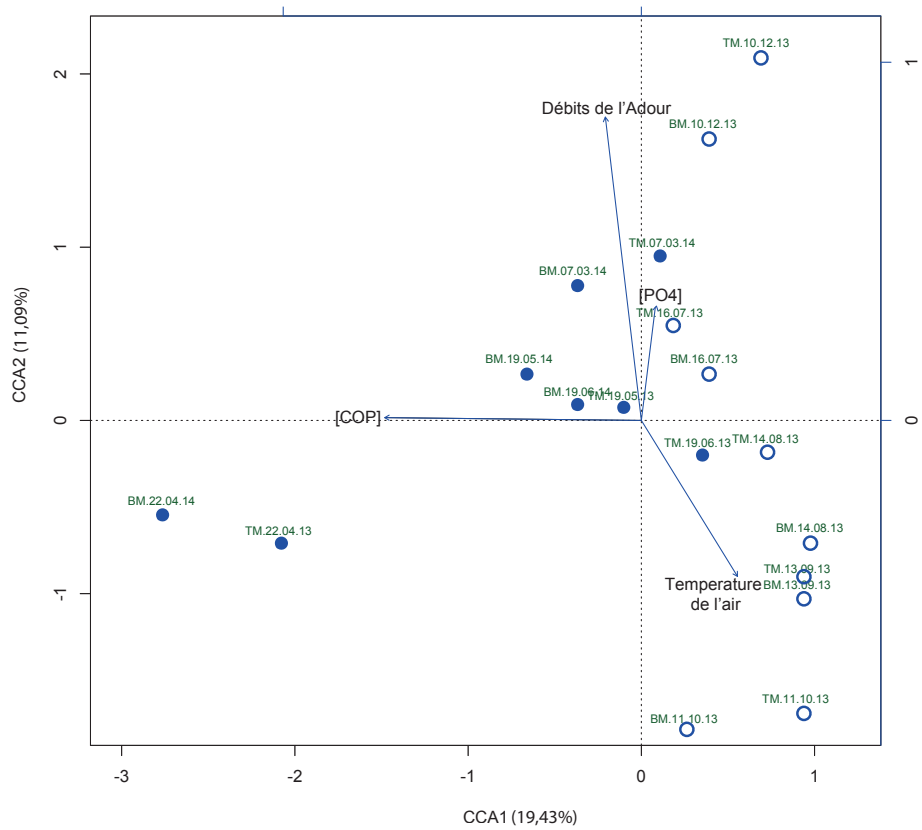


Figure IV.7 : Analyse en CCA des communautés bactériennes et eucaryotes marines à la PMCa (profondeur à laquelle se trouve le Liga). a) Bactéries. Les axes CCA1+ CCA2 expliquent 31,74% de la variation des communautés bactériennes. b) Eucaryotes. Les axes CCA1+ CCA2 expliquent 30,52% de la variation des communautés eucaryotes. Seules les variables environnementales significativement explicatives ont été conservées. BM et TM représentent les prélèvements respectifs de Biarritz et de Tarnos à la PMCa en mer et les chiffres représentent les dates de prélèvement.

3. Discussion

La T-RFLP est reconnue comme étant une bonne approche pour étudier les communautés microbiennes marines, même lorsque les assemblages sont complexes (Moeseneder et al., 1999). Ce chapitre a visé à comparer la structure des communautés microbiennes de l'eau de mer et des trois fractions isolées du Liga par cette technique de T-RFLP.

3.1. Variation des communautés marines de Tarnos

La diversité des communautés marines de Tarnos est la même sur toute la colonne d'eau dans les trois domaines du vivant. De faibles différences de diversité le long de la colonne d'eau ont déjà été observées dans les communautés eucaryotes du Golfe de Gascogne lors d'un suivi annuel (Trigueros and Orive, 2001). Dans cet article comme dans ce chapitre, les principales différences entre les communautés eucaryotes étaient saisonnières. Nos résultats sont également en accord avec ceux de Acinas et al. (1997) qui avaient montré par une technique de T-RFLP que les bactéries étaient distribuées de façon uniforme sur toute la colonne d'eau en eau peu profonde. A l'inverse de ce qui avait été observé dans le MPM de mer Adriatique (Danovaro et al., 2009), la diversité bactérienne est plus faible dans le Liga que dans l'eau de mer. La diversité eucaryote est également plus faible dans la fraction agrégée du Liga que dans l'eau de mer. Ces résultats confortent notre théorie émise dans le chapitre précédent, à savoir que le Liga est probablement la résultante d'une agrégation massive de quelques espèces marines. Appuyant cette théorie, en mer Adriatique il a été démontré que les MPM étaient constitués de microorganismes eucaryotes en provenance de l'eau de mer environnante (Godrijan, 2013; Hoppenrath, 2004), et que ces MPM concentraient certaines espèces eucaryotes au détriment des autres espèces présentes dans l'eau de mer

(Totti et al., 2005). De plus, nous avons constaté que certains T-RF abondant dans l'eau de mer étaient également abondant dans le Liga. A l'inverse, la plupart des T-RF bactériens abondants dans le Liga ne sont pas des T-RF abondants dans l'eau de mer, ce qui correspond également à des résultats obtenus sur les communautés bactériennes du MPM de mer Adriatique. En effet, Danovaro et al. (2009) ont mis en évidence que la majorité des taxons bactériens observés dans le MPM n'étaient pas détectés dans l'eau de mer. Enfin, Turk et al. (2010) ont montré par microscopie électronique que le MPM avait une structure de nid d'abeille (figure I.8, chapitre I), pouvant former une niche écologique favorable au développement des bactéries. Ainsi, il semblerait qu'à Tarnos, comme ce que l'on a déjà pu observer à Biarritz dans le chapitre précédent, le Liga est composé d'eucaryotes agrégés en provenance de l'eau mer, et que les agrégats sont ensuite colonisés par des bactéries opportunistes qui s'y multiplient en masse, formant ainsi une communauté bactérienne différente de celles habituellement observées en mer. Concernant les archées, nous n'en avons pas trouvé dans la fraction agrégée du Liga de Tarnos non plus, confortant les résultat précédemment obtenus sur la recherche de communautés archées dans les agrégats marins (DeLong et al., 1993).

3.2. Comparaison entre la variation des communautés microbiennes de Biarritz et celles de Tarnos

Il n'y a aucune différence significative entre les prélèvements d'eau de mer et de fraction agrégée du Liga de Biarritz et de Tarnos. Les communautés microbiennes de Tarnos sont dominées par les mêmes T-RF abondant que ceux observés à Biarritz tout au long de l'année pour les trois domaines du vivant. De plus, les mêmes dynamiques saisonnières sont observées aux deux stations de prélèvement et les communautés microbiennes des deux stations de prélèvement dépendent des mêmes paramètres environnementaux pour chaque date de prélèvement. La seule différence constatée se trouve dans la variation saisonnière des communautés eucaryotes de Tarnos qui n'est pas significative. Ceci correspond aux résultats obtenus par Orive et al. (2004) près de notre zone d'étude, qui avaient montré que les communautés eucaryotes marines présentaient une forte variation saisonnière dans le sud du Golfe de Gascogne.

A l'origine, les prélèvements de Tarnos devaient servir à étudier la dynamique des communautés marines non-impactées par le Liga. En effet, selon l'étude préliminaire de Suspèrregui et al. (2012), la zone nord de l'estuaire de l'Adour, représentée par Tarnos, était une zone faiblement impactée par la présence de Liga alors que la zone sud, représentée par Biarritz, était une zone fortement impactée par la présence de Liga. Étant donné que le panache de l'Adour est dévié vers le sud (Dailloux et al., 2006), nous pouvions nous attendre à y trouver des concentrations en nutriments d'origine continentale plus élevée. En réalité, les concentrations des nutriments inorganiques mesurées dans l'eau de mer et la concentration de matière en suspension ne sont pas très différentes entre les deux stations de prélèvement, pour les trois profondeurs (cf. tableau S3). De même, les concentrations en matière organique sont équivalentes entre les deux stations de prélèvement, excepté dans certains prélèvements d'eau de fond sur la période de Juin à Septembre 2013 (tableau S3). Il a été démontré que sur de long transects, la production et la consommation de la matière organique de l'eau de mer en est plus faible que la variation de ces mêmes paramètres sur différentes saisons (Marquis et al., 2007). De plus, les variations des communautés bactériennes et la concentration en matière organique particulaire et dissoute varie peu dans les MPM de mer Adriatique, malgré un écart entre les stations de prélèvement pouvant atteindre plus d'une centaine de kilomètres (Del Negro et al., 2005). Enfin, une étude les nanoflagellés sur un transect dans le sud du Golfe de Gascogne était arrivée aux mêmes conclusions, à savoir qu'il y avait peu de variations dans les paramètres environnementaux et que les communautés microbiennes suivaient la même dynamique (Granda and Anadón Álvarez, 2008). Ainsi, il n'est pas étonnant de ne pas observer de variation spatiale entre les deux stations de prélèvement. Enfin, du fait de la proximité des deux stations de prélèvement, celles-ci ont été soumises aux mêmes conditions climatiques qui structurent donc les communautés microbiennes de la même façon. Il n'est ainsi pas étonnant d'observer la présence de Liga dans les deux stations de prélèvement à chaque fois que le phénomène s'est produit, en dépit de l'influence inégale du panache de l'Adour. Cependant, malgré cette absence de différence nous pouvons aussi émettre l'hypothèse que les communautés microbiennes marines peuvent présenter une composition différente (et donc des interactions microbiennes différentes) entre Biarritz et Tarnos, mais que cette

différence n'a pas pu être mise en évidence à cause de la technique utilisée, peu résolutive. Ainsi, il serait intéressant de vérifier cette théorie par une technique d'analyse plus fine, telle que le séquençage à haut débit. De plus, les apparitions de Liga dans la zone sud de l'estuaire de l'Adour avaient été répertoriées notamment par le fait que le Liga se fixait sur les palangres. Étant donné que les courants marins de la zone de l'estuaire de l'Adour remontent vers le nord tout au long de l'année (van Aken, 2002), nous pouvons aussi émettre l'hypothèse que le Liga se forme effectivement au large de Biarritz et est ensuite emporté au large de Tarnos par les courants marins.

3.3 Paramètres climatiques influençant la structure des communautés microbiennes marines à la profondeur d'apparition du Liga

Gilbert et al. (2012) ont montré que les principaux facteurs structurant des communautés microbiennes, devant le rôle des réseaux trophiques, étaient les paramètres environnementaux présentant une variation saisonnière, bien que selon Murray et al. (1999) les communautés archées cotières ne subiraient que peu de variations saisonnières. Beaucoup d'espèces de diatomées et de dinoflagellés sont présentes toute l'année dans la zone d'étude, et d'autres ont un comportement très saisonnier (Trigueros and Orive, 2001). Ceci explique le fait que l'on retrouve des T-RF communs tout au long de l'année et que d'autres T-RF ont une présence saisonnière. Les communautés bactériennes de l'eau de mer à la PMCa et au fond, ainsi que les communautés archéennes de Tarnos présentent également une différence de composition entre les saisons É-A et H-P. Pour les communautés procaryotes des autres compartiments et pour les communautés eucaryotes, il est possible que nous n'ayons pas pu détecter de différence significative saisonnière du fait que le nombre de prélèvements à Tarnos soit réduit, ou alors les communautés microbiennes de Tarnos sont moins variantes du fait qu'elles sont moins impactées par la panache de l'Adour qui vient bouleverser les communautés marines, surtout pendant la saison H-P.

Cependant, parmi les paramètres environnementaux structurant les communautés microbiennes de l'eau de mer à la PMCa, profondeur à laquelle est observée le Liga, six variables structurantes pour les communautés bactériennes et quatre variables structurantes pour les communautés eucaryotes sont ressorties de l'analyse en CCA, identiques pour les deux stations de prélèvement. La durée d'ensoleillement est un paramètre environnemental très influent dans la structure des communautés bactériennes marines, pouvant expliquer à elle seule jusqu'à 66,3% de la variation de la communauté (Gilbert et al., 2012). De la même façon, la température de l'eau va jouer un rôle fondamental dans la structure des communautés bactériennes car la multiplication de ces microorganismes est température-dépendante (Price and Sowers, 2004). En effet, les températures de l'eau plus élevées pendant la saison É-A ont probablement favorisé le développement bactérien dans l'eau de mer et la durée d'ensoleillement, également plus élevée pendant cette période a probablement favorisé le développement de microorganismes autotrophes. La houle est également un paramètre climatique important dans la structure des communautés bactériennes car elle peut détruire les assemblages microbiens sensibles à la dislocation physique (Margalef, 1997). La houle pendant la saison É-A, est en moyenne plus faible et moins variable à cette saison qu'à la saison H-P (Charles et al., 2012). Cela permet le développement de communautés microbiennes plus stables. De manière générale, les principaux facteurs environnementaux structurant les communautés microbiennes côtières du Golfe de Gascogne sont les apports en nutriments continentaux provenant des rivières, et la concentration de matière en suspension (Borja and Collins, 2004). En hiver et au printemps, ces apports arrivent en plus grande quantité à cause des pluies plus abondantes et de la fonte des neiges. De plus, le réchauffement de l'air au printemps va entraîner un réchauffement progressif de l'eau de mer, favorisant le développement bactérien. La concentration en matière en suspension et en azote organique particulaire ainsi que la température de l'air sont les facteurs structurants des communautés bactériennes marines au printemps. La forte concentration de matière en suspension en mer au printemps indique que les apports de l'Adour en mer sont élevés, amenant en plus grande quantité des nutriments d'origine continentale en mer qui permettront le développement de microorganismes hétérotrophes en mer.

La composition des communautés eucaryotes de la saison H-P est reliée à la concentration en carbone organique particulaire. Cette période correspond au moment où la production primaire est maximale dans le Golfe de Gascogne (Marquis et al., 2007). Ces éléments sont essentiels aux besoins métaboliques du phytoplancton et permet développement des blooms printaniers dans cette zone. Une étude dans de l'eau de mer tempérée a effectivement montré que ces nutriments étaient consommés lors des blooms phytoplanctoniques printaniers (Tiselius and Kuylenstierna, 1996). Les périodes post-bloom sont d'ailleurs caractérisées par l'apparition d'agrégats de type neige marine dans l'eau, correspondant à une agrégation des espèces phytoplanctoniques qui se sont développées pendant le bloom. Cependant dans ce cas, la neige marine avait régressé en une semaine alors que dans notre cas, le phénomène prend plus d'ampleur et dure plusieurs mois.

3.4 Diversité et dynamique des communautés microbiennes du Liga

Comme pour les communautés microbiennes marines, nous n'avons observé aucune différence dans la composition ou dans la diversité entre les communautés microbiennes de Biarritz et de Tarnos. De plus, le renouvellement des communautés microbiennes de Tarnos semble suivre la même dynamique que Biarritz, car la similarité moyenne annuelle des communautés bactériennes et eucaryotes des trois fractions du Liga est identique. Ce résultat peut provenir d'une ou plusieurs de ces raisons : (i) le Liga est apparu chaque mois aux deux stations de prélèvement, il s'agit donc probablement du même phénomène qui apparaît sur une zone étendue ou d'un phénomène qui apparaît à Biarritz et qui est déplacé vers Tarnos par les courants marins qui sont dirigés vers le nord (van Aken, 2002) ; (ii) les communautés microbiennes du Golfe de Gascogne suivent les mêmes dynamiques sur des zones étendues (Granda and Anadón Álvarez, 2008), il n'est donc pas étonnant d'observer les mêmes communautés à Biarritz et à Tarnos qui sont deux stations de prélèvement très proches (7 km) ; (iii) dans le monde, les communautés eucaryotes observées dans les MPM sont souvent les mêmes (cf. revue § I.2.2.2) et il n'est donc pas étonnant d'observer les mêmes communautés

entre deux sites proches ; ou (iv) le nombre de prélèvements de Liga à Tarnos est trop faible pour en tirer de réelles conclusions statistiques.

La diversité globale des trois fractions du Liga de Biarritz est faible. Dans l'eau de mer, lorsque la concentration des bactéries et des eucaryotes augmente fortement et forme des agrégats, les microorganismes présents en plus forte concentration sont plus sensibles à la prédation anéantissant les espèces majoritaires et réduisant ainsi la diversité (Beltrami and Carroll, 1994; Beltrami, 2004 ; Langenheder and Jürgens, 2001). De plus, la multiplication massive de quelques espèces bactériennes et eucaryotes entraîne une compétition pour les nutriments avec les autres espèces présentes aux alentours, empêchant ainsi le développement des espèces présentes en plus faible abondance ou moins compétitrices et réduisant ainsi la diversité (Hibbing et al., 2010; Smayda, 1997). Enfin, des expériences de mésocosme ont montré que la multiplication massive du phytoplancton réduisait la diversité des communautés bactériennes (Riemann et al., 2000). Ces trois procédés peuvent également expliquer le fait que les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga soient moins stables au fil de l'année que les communautés des fractions attachées et planctoniques. Aucune variation significative de diversité n'est observée entre les trois fractions de Liga. Ceci s'explique en grande partie par le fait que les communautés des différentes fractions du Liga doivent être partiellement composées de microorganismes détachés de la fraction agrégée, comme ce qui a déjà été observé dans les MPM de mer Adriatique (Kovač et al., 2005). De plus, le Liga, comme les divers MPM présents dans le monde, est sensible à la désagrégation physique (Grilli et al., 2005). Bien que la filtration de la fraction agrégée a été effectuée de manière douce et utilisant uniquement la force gravitationnelle, il est possible que cet acte aie détaché quelques cellules de la fraction agrégée qui sont ensuite passées dans les fractions attachées et planctoniques. En revanche, les compositions des communautés bactériennes des trois fractions du Liga de Biarritz sont significativement différentes. Des résultats similaires avaient été observés dans les MPM de mer Adriatique où des groupes fonctionnels bactériens différents entre la fraction agrégées et son eau interstitielle étaient présents (Del Negro et al., 2005).

Le T-RF 371G est un T-RF indicateur des communautés bactériennes de la fraction planctonique du Liga et des communautés bactériennes l'eau de mer aux trois

profondeurs. Ainsi, certaines espèces dominantes marines se sont adaptées à la survie dans les environs proches du Liga, étayant l'hypothèse de la colonisation des agrégats par les microorganismes environnant. La composition eucaryote de la fraction agrégée du Liga est significativement différente des deux autres fraction alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les communautés eucaryotes des fractions attachées et planctoniques du Liga. De plus, lorsque l'on regarde les répartitions de T-RF, on remarque qu'ils ont la même distribution dans les fractions attachées et planctoniques du Liga et ainsi, les microorganismes présents dans ces deux fractions semblent les mêmes. Le picoplancton et le petit nanoplancton sont de taille inférieure à 5µm, qui est la taille qui nous a permis de séparer les fractions attachées et planctoniques (Cermeno et al., 2006). Ces deux groupes d'eucaryotes planctoniques sont donc les seuls à pouvoir se trouver dans la fraction planctonique. Ainsi, par analogie, nous pouvons supposer que la fraction attachée du Liga est composée de picoplancton et de petit nanoplancton attaché à des particules de taille inférieure à 60µm. Cette idée est renforcée par les nombreux T-RF indicateurs communs à la fois des fractions attachées et planctoniques. Ces groupes planctoniques semblent également très présents dans la fraction agrégée du Liga. Cependant cette fraction contient aussi d'autres T-RF. D'après la littérature (cf. revue, § I.2.2), nous pouvons nous attendre à ce que les autres espèces présentes dans la fraction agrégée du Liga soient des diatomées et/ou des dinoflagellés agrégés. Appuyant cette idée, les communautés eucaryotes de la fraction agrégée sont plus stables au cours de l'année que les communautés des fractions attachées et planctoniques. Ainsi, les communautés de la fraction agrégée sont probablement constituées des espèces ayant formé les blooms saisonniers habituels dans la région qui se sont ensuite agrégés en Liga, comme les phénomènes d'agrégation conduisant à la formation de MPM (Svetličić et al., 2011).

Lié à la structure des communautés microbiennes marines, le Liga présente également une dynamique saisonnière, dans les trois fractions pour les communautés eucaryotes, et dans les fractions agrégées et planctoniques pour les bactéries. En effet, les communautés bactériennes de la fraction attachée du Liga sont représentées par le même T-RF majeur tout au long de l'année, pouvant représenter jusqu'à 76% de l'abondance totale. En revanche, une dynamique saisonnière se dessine dans les communautés bactériennes des fractions agrégées et

planctoniques, et dans les communautés eucaryotes de toutes les fractions du Liga, avec des T-RF abondants en Juin 2013 différents des T-RF abondant du Liga de la saison É-A 2013 et également d'autres T-RF abondant pendant la période H-P de 2014. Des variations saisonnières dans la composition des communautés eucaryotes du MPM de mer Adriatique avait également été constatées entre le printemps et l'été (Degobbis et al., 1995). A notre connaissance, les variations saisonnières des communautés bactériennes des MPM n'ont, jusqu'à aujourd'hui, pas été étudiées.

Pour conclure, nous pouvons décrire plusieurs types de dynamiques pour les communautés microbiennes du Liga. En effet, les communautés bactériennes des trois fractions semblent suivre chacune leur dynamique, avec des communautés de la fraction agrégée et de la fraction planctonique différentes mais suivant une dynamique saisonnière, et une communauté attachée qui ne varie pas en dépit des variations biotiques et abiotiques du Liga au fil de l'année. Concernant les communautés eucaryotes, nous distinguons plutôt deux dynamiques gouvernées chacune par les variations saisonnières : celle de la fraction agrégée qui correspond probablement à une agrégation post-bloom des eucaryotes étant impliqués dans le bloom, et celle des fractions attachée et planctonique qui seraient composées de petit nanoplancton et de picoplancton.

- Chapitre V -

**Diversité spécifique du Liga, de l'eau de
mer, et de l'Adour**

1. Introduction

Les MPM sont connus pour piéger et concentrer un large éventail d'organismes planctoniques, du bactérioplancton au zooplancton en passant par le phytoplancton (Del Negro et al., 2005; Flander-Putrlle and Malej, 2008). La majorité des espèces phytoplanctoniques observées sont des espèces capables de faire des blooms (Bianchi et al., 2002; Horner, 2002; Schlüter et al., 2012). Ce sont majoritairement des diatomées, des dinoflagellés, des haptophytes, et parfois des cyanobactéries (Flander-Putrlle and Malej, 2008). Dans la littérature, il est suspecté que ces organismes interviennent dans les stades initiaux de formation des MPM, en produisant les EPS et les TEP qui vont constituer la matrice des agrégats (Gärdes et al., 2010). Alors que la majorité des espèces eucaryotes observées dans les MPM sont majoritairement du phytoplancton saisonnier de l'eau de mer environnante (Godrijan, 2013), il semblerait que le bactérioplancton des MPM aie une composition relativement différente de celle de l'eau de mer environnante (Danovaro et al., 2009). Dans les chapitres précédents nous avons mis en évidence une dynamique saisonnière pour les communautés microbiennes de l'eau de mer et du Liga. La plupart des T-RF eucaryotes abondants dans l'eau de mer étaient également abondant dans la fraction agrégée du Liga, alors que cela n'est pas le cas pour les communautés bactériennes, suggérant une dynamique de formation du Liga proche de celle observée dans les autres MPM, à savoir (i) une agrégation massive du phytoplancton (ii) suivie d'une colonisation par certaines espèces du bactérioplancton environnant.

L'objectif de ce chapitre est de suivre la dynamique et la composition des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour, de l'eau de mer, et du Liga, pendant les périodes d'apparition du Liga, par sa caractérisation à l'aide d'outil de séquençage haut débit (MiSeq). Ainsi, dans ce chapitre, l'évaluation des assemblages microbiens a été réalisée de façon plus précise que dans les chapitres précédents et la taxonomie des OTU présentes dans le Liga a été révélée. La caractérisation des communautés microbiennes de ce chapitre a été réalisée sur tous les compartiments des prélèvements intensifs à Biarritz (tableau V.1).

Tableau V.1 : Échantillons utilisés dans ce chapitre. En noir sont représentés les échantillons conservés pour les analyses, et en gris les échantillons exclus.

Type de prélèvement	Lieu de Prélèvement	Nature de l'échantillon	Type d'échantillon
Intensif Mensuel	Adour	Eau douce	Surface
	Biarritz	Eau de mer	Surface
			Maximum de Chl <i>a</i> Fond
	Liga	Liga	Agrégé
			Attaché Planctonique
	Tarnos	Eau de mer	Surface
Maximum de Chl <i>a</i> Fond			
Liga	Liga	Agrégé Attaché Planctonique	

2. Résultats

A l'issue du nettoyage des données de séquençage à haut débit MiSeq et basé sur des clusters de 97% de similarité pour la définition des OTU, 21409 OTU bactériennes et 10434 OTU eucaryotes ont été obtenues pour l'ensemble des échantillons (tableau V.2). Pour réaliser les clusters, 5000 séquences par échantillon amplifié avec les amorces codant pour le gène de l'ARNr 16S bactérien et 2500 séquences par échantillon amplifié avec les amorces codant pour le gène de l'ARNr 18S eucaryote ont été conservées.

Tableau V.2 : Données obtenues au travers du nettoyage par MOTHUR pour traiter les séquences du gène codant pour l'ARNr 16S des bactéries et de séquences du gène codant pour l'ARNr 18S des eucaryotes. Les OTU ont été obtenues en regroupant les séquences de plus de 97% de similarité.

Nombre de séquences dans l'ensemble des échantillons

	Avant nettoyage	Après nettoyage et sous-échantillonnage	Nombre total d'OTU
Bactéries	11017320	471379	21409
Eucaryotes	10520643	229575	10434

2.1. Résultats préliminaires

La richesse des échantillons analysés par la technique de MiSeq a été comparée à la richesse des échantillons obtenue par la technique de T-RFLP par un test de corrélation utilisant l'indice de Spearman. La valeur de r pour ces tests est de 0,26 pour la comparaison des richesses bactériennes et de 0,22 pour la comparaison des richesses eucaryotes. Ainsi la corrélation observée dans les deux cas est faible. Ces résultats nous montrent que la richesse obtenue dans les échantillons par technique de MiSeq n'est pas comparable à celle obtenue par T-RFLP (figure V.1).

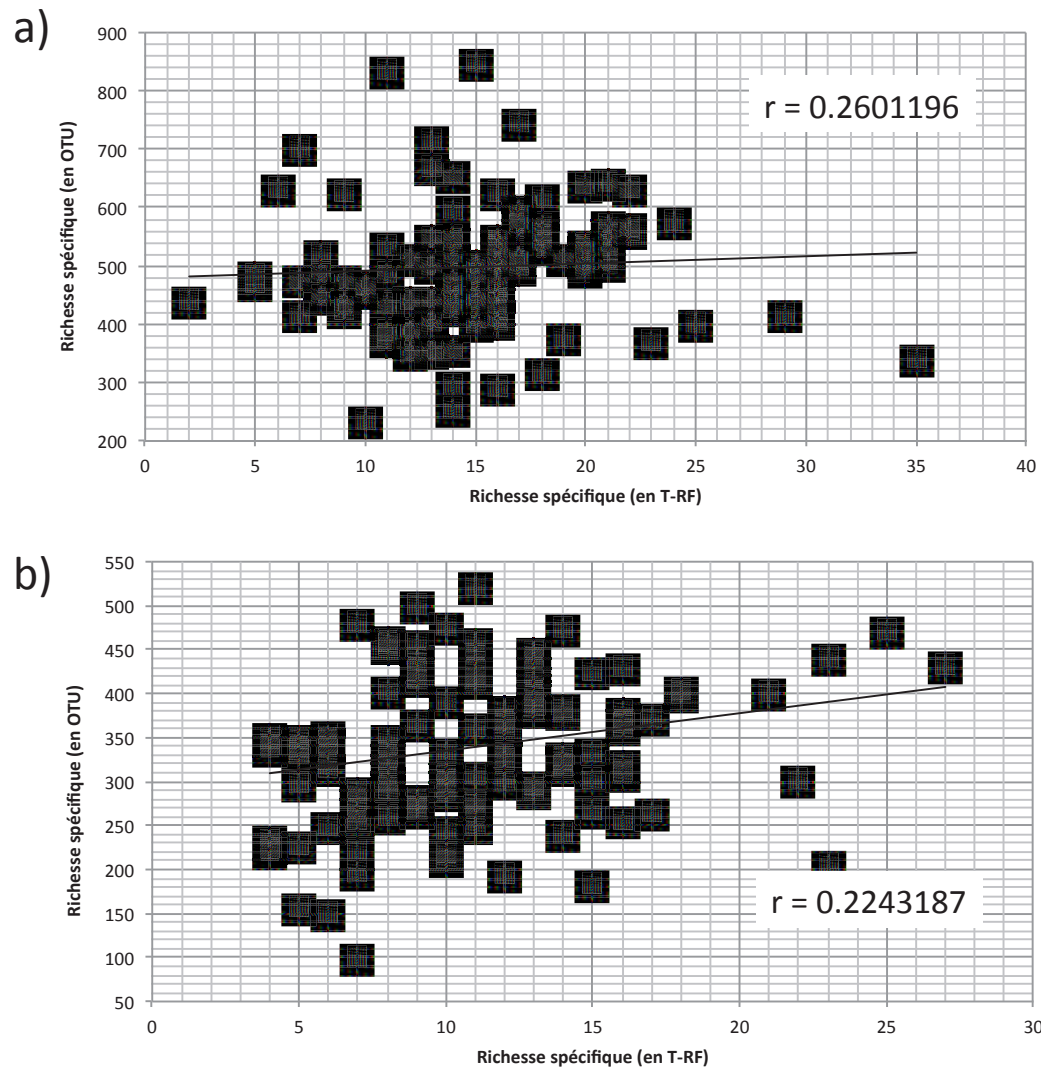


Figure V.1 : Tests de corrélation entre les richesses bactériennes obtenues par la technique de T-RFLP et les richesses obtenues par la technique de MiSeq. Ce test a été fait en utilisant l'indice de corrélation de Spearman. L'axe des x représente la richesse obtenue par la technique de T-RFLP (où les T-RF représentant moins de 1% de l'abondance totale ont été enlevés) et l'axe des y représente la richesse obtenue par la technique de MiSeq (basée sur des OTU avec 97% de similarité, et sans singletons). a) Bactéries, b) Eucaryotes.

2.2. Comparaison de la diversité entre les différents compartiments

2.2.1. Répartition des espèces eucaryotes du Liga, de l'eau de mer, et de l'Adour

La composition taxonomique à l'échelle du phylum a été analysée pour les communautés eucaryotes de l'eau de mer, de l'Adour, et du Liga (figure V.2). Deux

phyla eucaryotes sont majoritairement observés dans l'Adour. Le plus abondant est le phylum SAR, qui représente 48% des OTU de l'Adour. Ce phylum regroupe les classes des *Stramenopiles* (contenant les diatomées), des *Alveolata* (contenant les dinoflagellés) et des *Rhizaria*. Le phylum des *Opisthokonta* est le deuxième phylum eucaryote le plus abondant dans l'Adour et représente 33% des OTU. Ce phylum englobe les classes des *Metazoa*, des *Fungi*, des *Choanoflagellata*, des *Cristidiscoiada* et des *Ichthyosporea*. Dans l'eau de mer, ces deux phyla sont également très abondants. Le phylum SAR représente en moyenne de 48% à 53% des séquences marines et le phylum des *Opisthokonta* représente de 33% à 40% des séquences marines. Dans l'eau de mer, un troisième phylum abondant est observé, le phylum des *Haptophyta* qui représente de 3,7% à 4,6% des séquences marines. Dans les autres compartiments, l'abondance relative de ce phylum ne dépasse pas 0,5%. Dans les trois fractions du Liga, les deux phyla SAR et *Opisthokonta* sont également les plus abondants. Mais à l'inverse des autres compartiments, c'est le phylum des *Opisthokonta* qui est le plus abondant représentant 70% des séquences pour la fraction attachée, 77% des séquences de la fraction planctonique du Liga et 89% des séquences de la fraction agrégée.

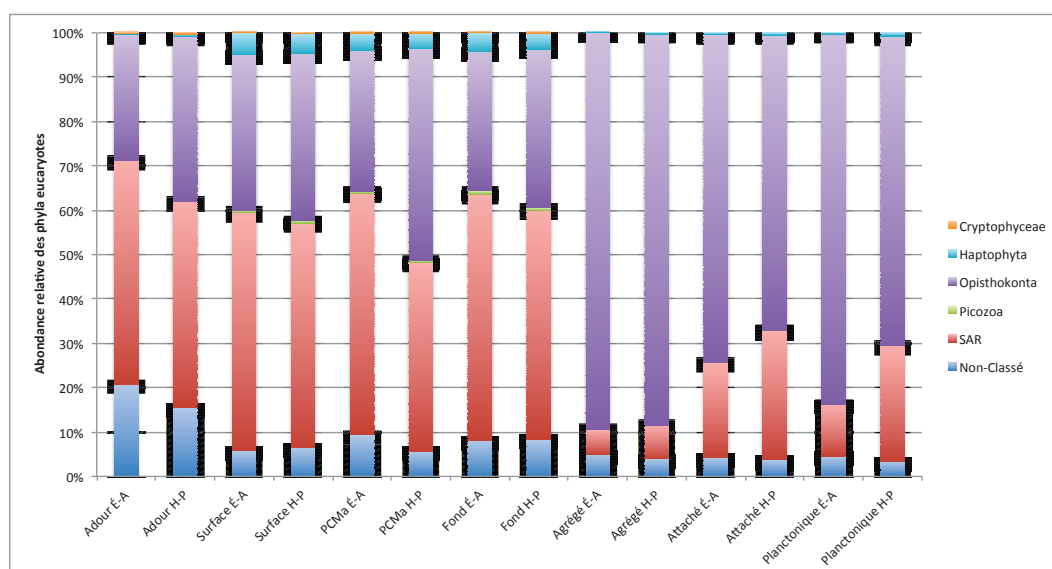


Figure V.2 : Répartition des phyla eucaryotes représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.

Pour tous les compartiments marins et pour les trois fractions du Liga, les classes taxonomiques observées les plus abondantes sont la classe des *Holozoa* pour le

phyla des *Opisthokonta* et la classe des *Alveolata* pour le phylum SAR. Dans l'Adour, la classe appartenant au phylum des *Opisthokonta* la plus représentée est la classe de *Nucleomycea* qui contient les champignons. La classe des *Holozoa* contient majoritairement des séquences de zooplancton (en moyenne 27% des OTU) et de cnidaires (en moyenne 60% des OTU) et la classe des *Alveolata* contient majoritairement des séquences de dinoflagellés (en moyenne 45% des OTU, sachant qu'il y a 33% d'OTU non-classées) dans les communautés eucaryotes des différents compartiments. Concernant le phylum des *Haptophyta*, la classe des *Prymnesiophyceae* est la plus abondante dans les échantillons d'eau de mer. Ce phylum est le plus représenté dans les compartiments d'eau de mer (figure V.3).

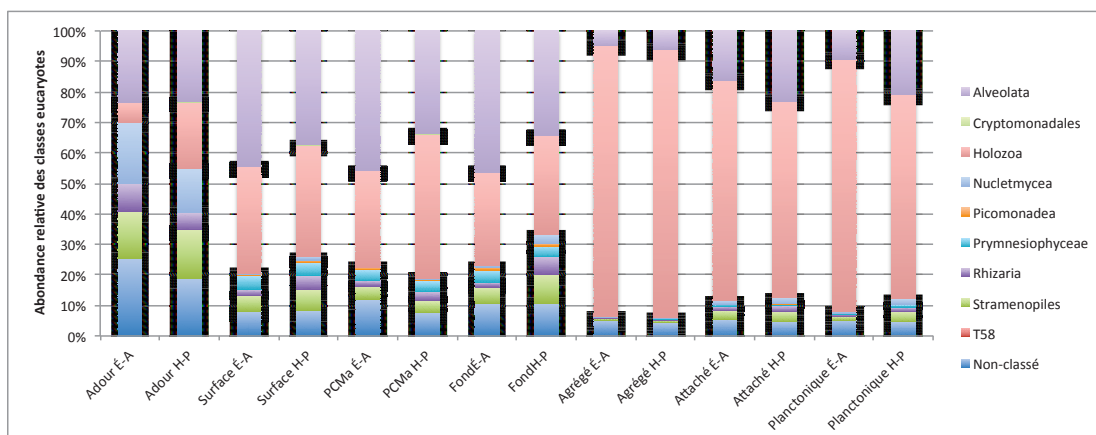


Figure V.3 : Répartition des classes eucaryotes représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.

Les groupes majoritairement observés par microscopie optique dans les MPM dans le reste du monde et dans la pré-étude sur le Liga ont été recherchés dans l'eau de mer et dans le Liga (figure V.4). Les haptophytes, peu abondants dans les fractions du Liga, n'ont pas été représentés. Les dinoflagellés sont très abondants dans l'eau de mer de surface et à la PMCa, et dans la fraction planctonique du Liga, représentant jusqu'à 31% des séquences. A l'inverse, les dinoflagellés sont moins présents dans les eaux de fond et dans les fractions agrégées et attachées du Liga. Dans les fractions agrégées et planctoniques du Liga, les dinoflagellés représentent la majorité des organismes observés du phylum SAR. Les diatomées sont très peu

présentes dans l'ensemble des échantillons, représentant en général moins de 1% des séquences.

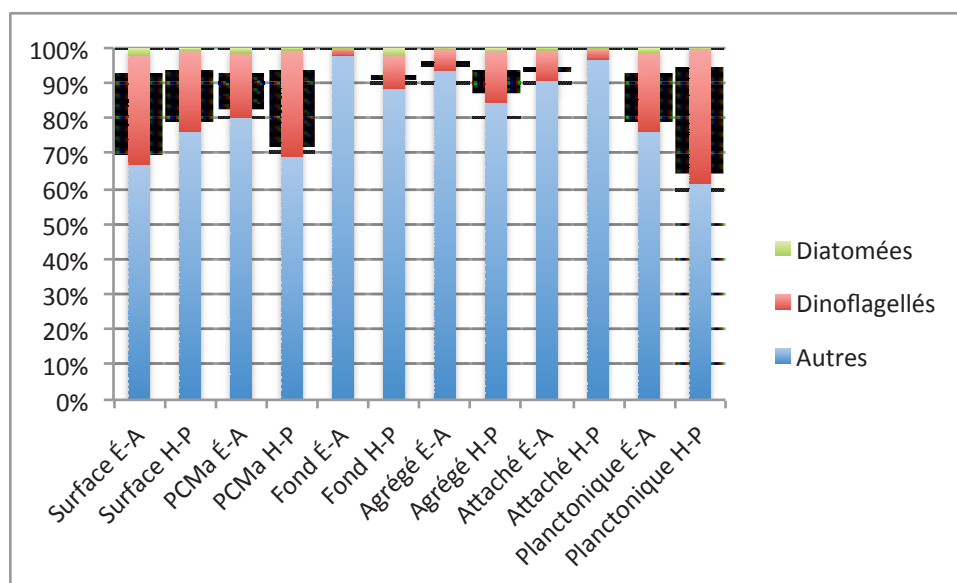


Figure V.4 : Répartition des taxons eucaryotes majoritairement observés dans les études sur les MPM (représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité) dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A.

2.2.2. Répartition des espèces bactériennes du Liga, de l'eau de mer, et de l'Adour

La composition taxonomique à l'échelle du phylum a été analysée dans les communautés bactériennes de l'eau de mer, de l'Adour, et du Liga (figure V.5). Le phylum le plus abondant dans tous les échantillons est celui des *Proteobacteria*, qui représente de 54% à 63% de l'abondance relative des séquences. Le deuxième phylum le plus abondant est celui des *Bacteroidetes*, représentant de 11% à 23% de l'abondance relative des séquences. Dans l'eau de mer et dans les trois fractions du Liga, un autre phylum est abondant : celui des *Cyanobacteria* qui représente de 3% à 13% de l'abondance relative des séquences. Dans l'Adour, ce phylum concerne seulement 1,2% des séquences pour les deux saisons. À l'inverse, le phylum des *Actinobacteria* est plus abondant dans l'Adour, où il représente de 10% à 16% de l'abondance relative des séquences. Dans les autres compartiments il représente de 3% à 10% de l'abondance relative des séquences.

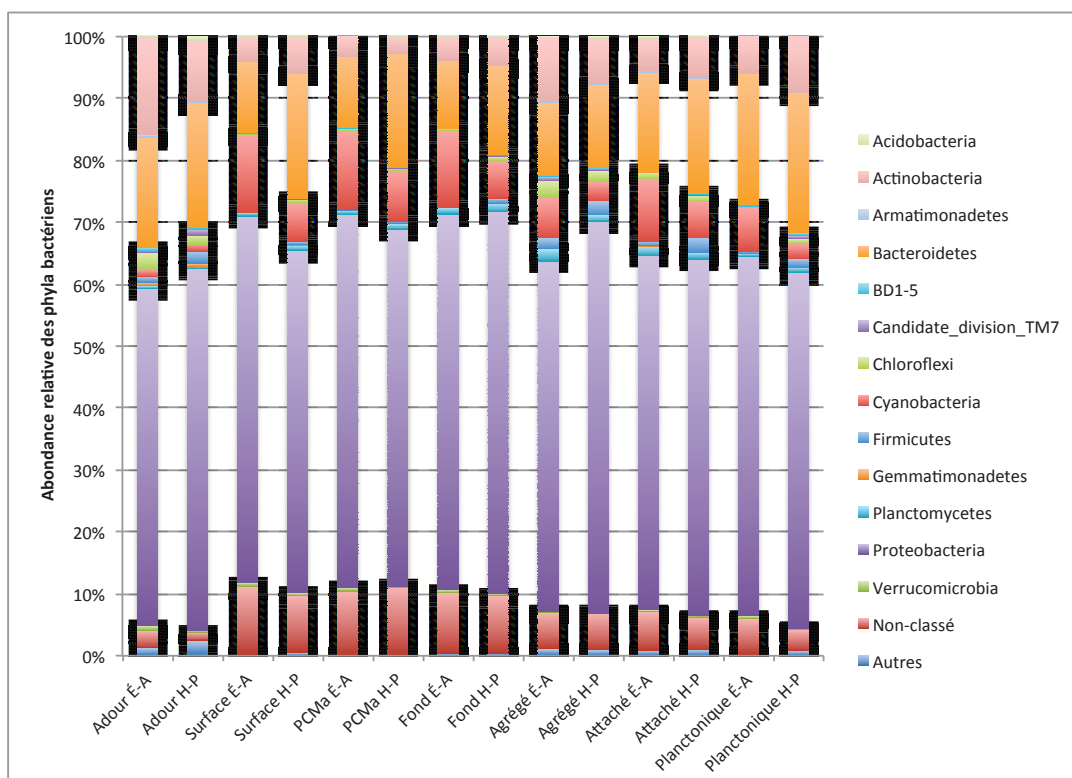


Figure V.5 : Répartition des phyla bactériens représentés par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A. Le groupe « Autres » contient les phyla peu abondants. L'ensemble de l'abondance relative cumulée de ces phyla peu abondants est de 0,1%.

Nous nous sommes aussi intéressés à la composition des deux phyla bactériens les plus abondants (figure V.6). Dans le phylum des *Proteobacteria*, la classe des *Alphaproteobacteria* domine largement les communautés bactériennes de l'eau de mer et du Liga, représentant de 45% à 77% des séquences. Les *Alphaproteobacteria* sont plus abondantes à la saison É-A dans tous les échantillons marins et dans la fraction planctonique du Liga. A l'inverse, cette classe est moins abondante à la saison É-A qu'à la saison H-P dans les fractions agrégées et attachées du Liga. Dans la classe des *Alphaproteobacteria*, la famille de bactéries SAR11 est la plus abondante, représentant 52% des OTU observées. La deuxième classe la plus abondante dans ces compartiments est la classe des *Gammaproteobacteria* qui représente de 14% à 47% des séquences du phylum *Proteobacteria*. Cette classe de bactéries est aussi présente dans les différents compartiments marins à la saison É-A que à la saison H-P, sauf dans la fraction attachée du Liga où elle est plus

abondante à la saison É-A et la saison H-P (47% et 39% d'abondance relative, respectivement). C'est aussi dans cette fraction que cette classe est la plus abondante. Dans l'Adour, c'est la classe des *Betaproteobacteria* qui est la plus abondante, représentant 50% des séquences à la saison É-A et 47% des séquences à la saison H-P. Les deux autres classes abondantes de l'Adour sont les *Alphaproteobacteria* et les *Gammaproteobacteria* qui représentent en moyenne 36% et 12% de l'abondance totale des *Proteobacteria*.

Dans le phylum des *Bacteroidetes*, la classe la plus abondante de l'eau de mer et du Liga est la classe des *Flavobacteria* qui représente de 69% à 84% de l'abondance totale des séquences de ce phylum. Les deux autres classes abondantes sont les classes des *Sphingobacteria* et des *Cytophaga* qui représentent entre 10% et 8% des séquences de ce phylum. Dans l'Adour, la classe des *Sphingobacteria* est la plus abondante, représentant en moyenne 33% des séquences présentes dans le phylum des *Bacteroidetes*. Les deux autres classes abondantes de l'Adour sont les *Flavobacteria* et les *Cytophaga*, représentant en moyenne 28% et 25% de l'abondance totale. Il n'y a pas de variations saisonnières dans la composition du phylum des *Bacteroidetes*.

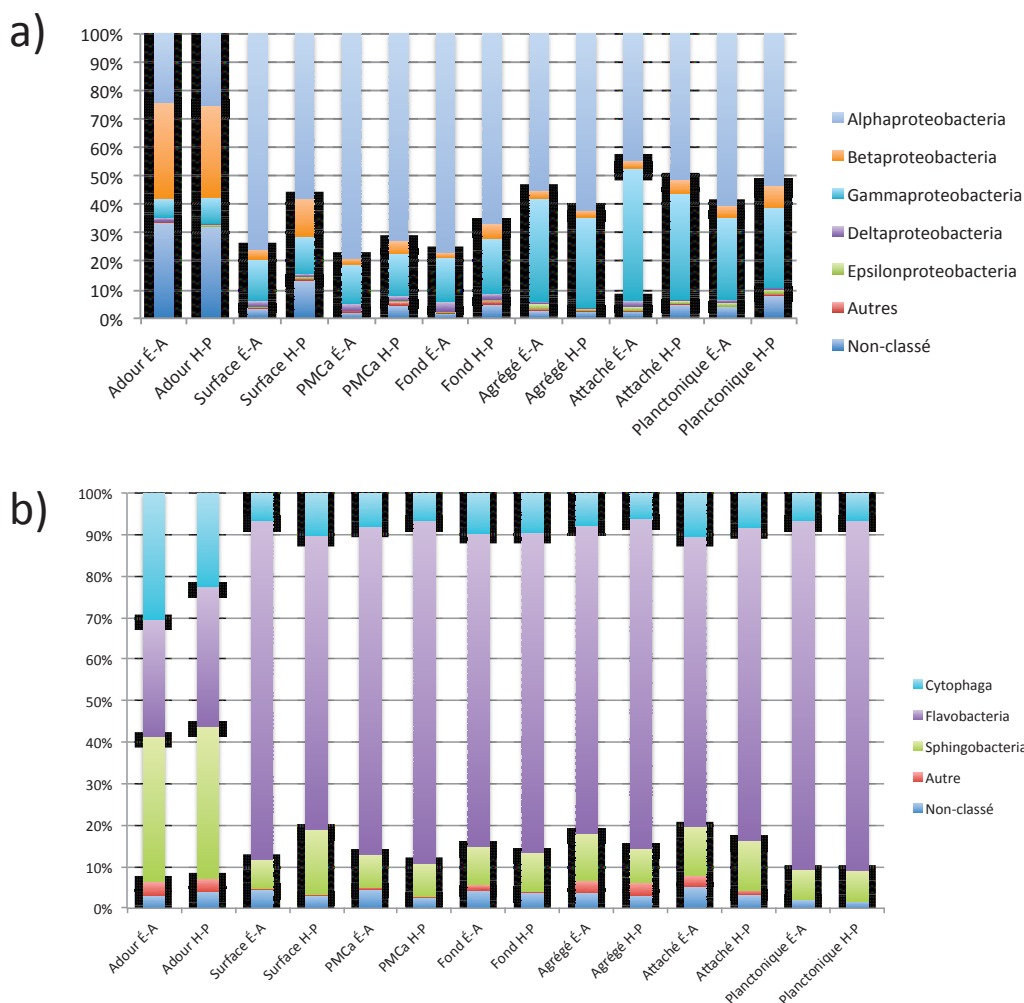


Figure V.6 : Répartition des classes bactériennes des phyla *Proteobacteria* et *Bacteroidetes* (représentées par les OTU dont les séquences ont au moins 97% de similarité dans l'eau de mer, dans l'Adour et dans le Liga selon les saisons H-P et É-A. a) *Proteobacteria*. Le groupe « Autres » contient les classes peu abondantes représentant moins de 0,7% de l'abondance totale. b) *Bacteroidetes*. Le groupe « Autres » contient les classes peu abondantes représentant moins de 3,3% de l'abondance totale.

La similarité au sein des compartiments a été analysée par SIMPER-test (tableau V.3, version plus détaillée dans le tableau S4). La similarité au sein des différents compartiments est en général plus faible pendant la saison H-P que pendant la saison É-A pour les communautés bactériennes et les communautés eucaryotes. Il y a cependant quelques exceptions. En effet, dans la fraction agrégée du Liga, les communautés eucaryotes et bactériennes ont un pourcentage de similarité équivalant tout au long de l'année. De même, la similarité dans la composition des communautés bactériennes de la fraction attachée du Liga a un pourcentage de similarité équivalant sur toute l'année.

Tableau V.3 : Pourcentages de similarité entre les compartiments étudiés obtenus par SIMPER-test.

	Eau de mer						Liga						Adour	
	Surface		PMCa		Fond		Agrégé		Attaché		Planctonique		H-P	É-A
	H-P	É-A	H-P	É-A	H-P	É-A	H-P	É-A	H-P	É-A	H-P	É-A		
Bactéries	16,36%	36,31%	18,39%	37,66%	20,00%	32,58%	26,42%	24,65%	36,34	38,95%	20,07%	39,09%	29,25%	45,18%
Eucaryotes	20,87%	33,61%	25,56%	33,67%	20,73%	29,85%	35,02%	31,33%	19,17%	37,78%	20,67%	23,83%	29,34%	23,88%

2.2.3. Diversité du Liga, de l'Adour et de l'eau de mer

La diversité alpha des différents compartiments a été mise en évidence par l'indice de Shannon (figure V.7 et tableau V.4). Pour les communautés bactériennes et eucaryotes, il n'y a pas de différence de diversité entre les trois fractions du Liga (agrégé, attaché et planctonique). Il n'y a pas non plus de différences significatives de diversité entre les trois compartiments marins (Surface, PMCa et Fond), ni entre l'Adour et les trois compartiments d'eau de mer (tableau V.4).

Concernant les communautés bactériennes, les mêmes résultats sont observés pour les fractions agrégée et attachée du Liga. La diversité bactérienne de la fraction planctonique ne présente aucune différence significative avec la diversité des autres fractions.

Tableau V.4 : Indices de diversité de Shannon moyen au sein des communautés microbiennes pour chaque fraction du Liga de Biarritz et de Tarnos.

	Adour	Surface	PMCa	Fond	Agrége	Attache	Planctonique
Bactéries	5,07 ± 0,78	4,82 ± 0,42	4,67 ± 0,36	4,77 ± 0,37	4,09 ± 0,65	4,36 ± 0,50	4,54 ± 0,43
Eucaryotes	4,73 ± 0,72	4,18 ± 0,90	4,1 ± 0,77	4,42 ± 0,49	3,44 ± 0,34	3,75 ± 0,75	3,47 ± 0,45

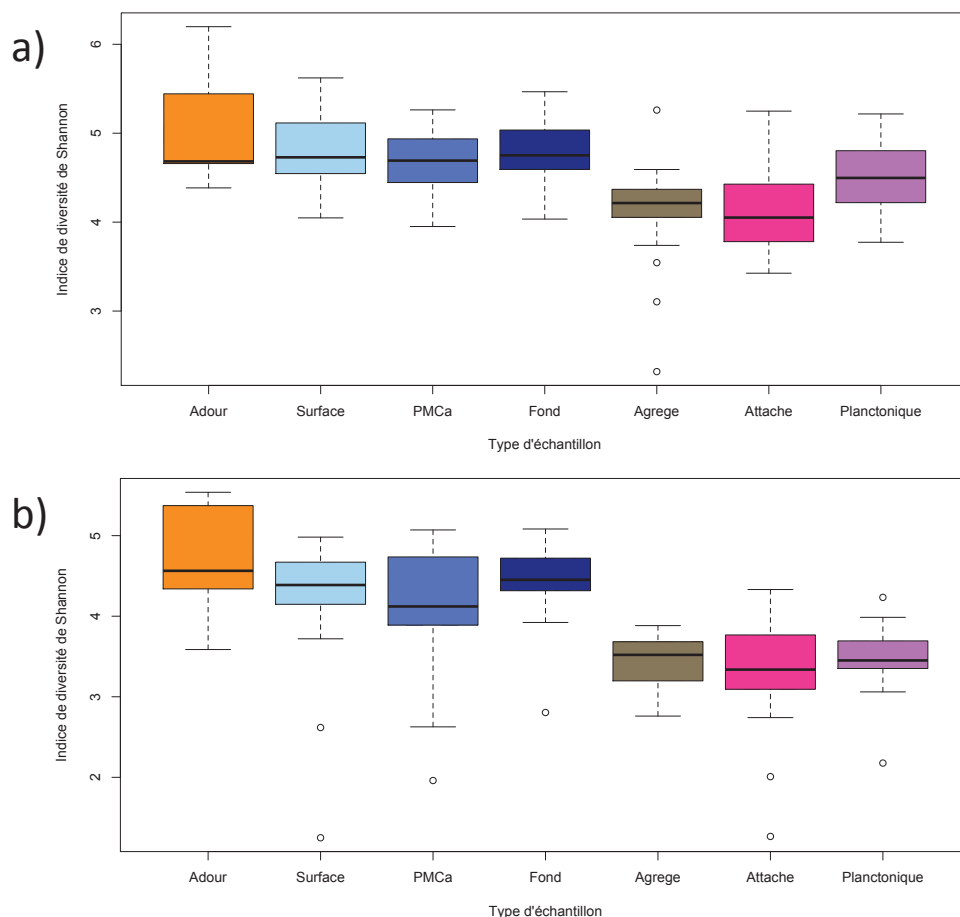


Figure V.7 : Boîtes à moustaches représentant la distribution des indices de Shannon des communautés bactériennes et eucaryotes des différentes fractions du Liga. La partie colorée représente la distribution des indices de Shannon entre le premier et le troisième quartile pour chaque type de prélèvement. Les barres à l'extérieur des boîtes indiquent l'erreur standard et la barre à l'intérieur des boîtes représente la médiane des indices de Shannon. a) Bactéries, b) Eucaryotes

Bactéries							
	Adour	Surface	PMCa	Fond	Aggrégé	Attaché	Planctonique
Adour	/						
Surface	n.s.	/					
PMCa	n.s.	n.s.	/				
Fond	n.s.	n.s.	n.s.	/			
Aggrégé	***	***	**	**	/		
Attaché	**	**	*	**	n.s.	/	
Planctonique	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	/

Eucaryotes							
	Adour	Surface	PMCa	Fond	Aggrégé	Attaché	Planctonique
Adour	/						
Surface	n.s.	/					
PMCa	n.s.	n.s.	/				
Fond	n.s.	n.s.	n.s.	/			
Aggrégé	*	***	**	***	/		
Attaché	**	***	**	***	n.s.	/	
Planctonique	**	***	**	***	n.s.	n.s.	/

Tableau V.5 : Résultats des tests de Tukey effectués sur la diversité estimée des échantillons estimées par l'indice de Shannon. n.s. : non-significatif ; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

2.2.4. Évolution des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments

2.2.4.1. Évolution globale des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments.

Les variations dans les compositions des communautés bactériennes et eucaryotes des différents compartiments ont été testées par PERMANOVA (tableau V.6). La composition des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour est significativement différente de celle de l'eau de mer et du Liga. De même, la composition des communautés bactériennes et eucaryotes est significativement différente entre l'eau de mer à la PMCa et les trois fractions du Liga. Dans l'eau de mer, la composition des communautés bactériennes n'est pas différente sur toute la colonne d'eau. Les communautés eucaryotes de l'eau de mer ne sont pas significativement différentes entre la surface et la PMCa, ni entre la PMCa et le fond de l'eau. En revanche, la composition des communautés eucaryotes est significativement différente entre la surface et le fond de l'eau. La composition des trois fractions du Liga est significativement différente pour les communautés bactériennes. La composition des communautés eucaryotes de la fraction agrégée du Liga est significativement différente des deux autres fractions. En revanche, la composition des communautés eucaryotes des fractions attachées et planctoniques du Liga n'est pas différente.

Tableau V.6 : Variations de la composition en OTU des communautés bactériennes et eucaryotes des différents compartiments d'eau de mer et des différentes fractions de Liga. Les comparaisons entre les différentes fractions de Liga sont dans les cases vertes, celles entre l'Adour et les autres compartiments sont dans les cases oranges, celles entre les différents compartiments de l'eau de mer sont en bleu et les comparaisons entre les trois fractions du Liga et les trois compartiments d'eau de mer sont en bleu. Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

	Eucaryotes								Bactéries						
	Surface	PMCa	Fond	Agrégé	Attaché	Planctonique	Adour		Surface	PMCa	Fond	Agrégé	Attaché	Planctonique	Adour
Surface	/							Surface	/						
PMCa	n.s.	/						PMCa	n.s.	/					
Fond	*	n.s.	/					Fond	n.s.	n.s.	/				
Agrégé	***	***	***	/				Agrégé	***	***	***	/			
Attaché	***	***	***	*	/			Attaché	***	***	*	***	/		
Planctonique	***	**	***	***	n.s.	/		Planctonique	***	***	***	***	***	/	
Adour	***	***	***	***	***	***	/	Adour	***	***	***	***	***	***	

2.2.4.2. Évolution saisonnière des communautés eucaryotes et bactériennes des différents compartiments.

La variation saisonnière entre les différents compartiments bactériens et eucaryotes a été mise en évidence par une analyse de similarité en réseau, basée sur le principe d'une PCoA (figure V.8). Les différences de composition entre les communautés microbiennes a ensuite été testée par PERMANOVA. La composition des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour ne présente pas de variation significative entre les saisons É-A et H-P. Cela est probablement dû au fait que ces communautés sont variables au cours d'une même saison, comme montré sur la figure V.7. Les compartiments marins et les fractions du Liga présentent une différence saisonnière significative dans leur composition bactérienne et eucaryote. L'analyse en réseau montre que les communautés bactériennes et eucaryotes des trois compartiments marins et de la fraction planctonique du Liga de la saison É-A sont plus similaires entre eux pour chaque compartiment, alors la composition de ces communautés est plus variable pendant la saison H-P. De plus, les compositions des communautés bactériennes et eucaryotes des trois compartiments marins et de la fraction planctonique du Liga sont très similaires entre elles pendant la saison É-A, et moins similaires pendant la saison H-P. En ce qui concerne les fractions agrégées et attachées du Liga, la composition des communautés bactériennes et eucaryotes y est en général plus variable que dans les autres compartiments, tout au long de l'année.

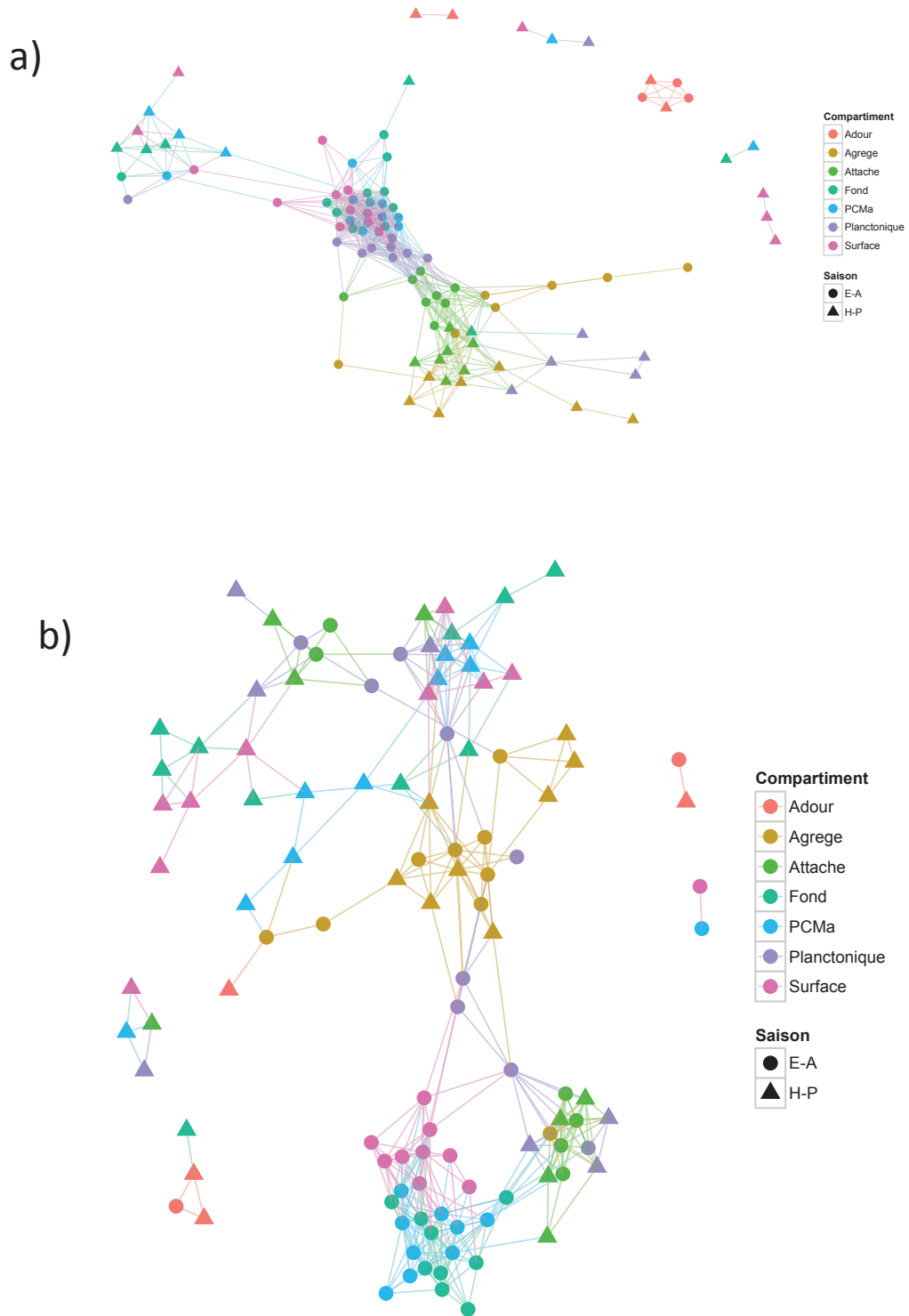


Figure V.8 : Réseau de distance des communautés bactériennes et eucaryotes. Les distances entre les échantillons sont représentées par des lignes les reliant deux à deux. Seuls les échantillons présentant moins de 80% de dissimilarité sont reliés entre eux. La distance a été calculée en utilisant l'indice de Bray-Curtis. a) Bactéries, b) Eucaryotes. É-A : Été-Automne, H-P : Hiver-Printemps.

Tableau V.7 : Variations des communautés bactériennes et eucaryotes des différents compartiments de l'eau de mer et du Liga analysées par PERMANOVA entre les deux saisons d'apparition du Liga (H-P et É-A). Les différences significatives sont indiquées par des étoiles : * si $P < 0,05$; ** si $P < 0,01$ et *** si $P < 0,001$. n.s. indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les compartiments concernés.

Bactéries		Eucaryotes	
Surface	***	Surface	***
PMCa	***	PMCa	***
Fond	***	Fond	***
Agrégé	***	Agrégé	***
Attaché	***	Attaché	***
Planctonique	***	Planctonique	***
Adour	n.s.	Adour	n.s.

2.3. Facteurs environnementaux conditionnant les communautés de la fraction agrégée du Liga.

Pour les communautés bactériennes et les communautés eucaryotes, les prélèvements des saisons É-A et H-P forment deux groupes influencés par des paramètres environnementaux distincts (figures V.9). L'axe CCA 1 sépare les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga selon les saisons H-P et É-A. Les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga sont dirigées principalement par la concentration en PON et par les débits de L'Adour, qui sont plus élevés pour les prélèvements à la saison H-P et plus faibles à la saison É-A. L'axe CCA 1 sépare également les communautés eucaryotes de la fraction agrégée du Liga selon les saisons H-P et É-A. Les communautés eucaryotes de la fraction agrégée du Liga sont dirigées principalement par la concentration en TEP qui est plus élevée à la saison H-P, et par la température de l'eau qui est plus élevée à la saison É-A.

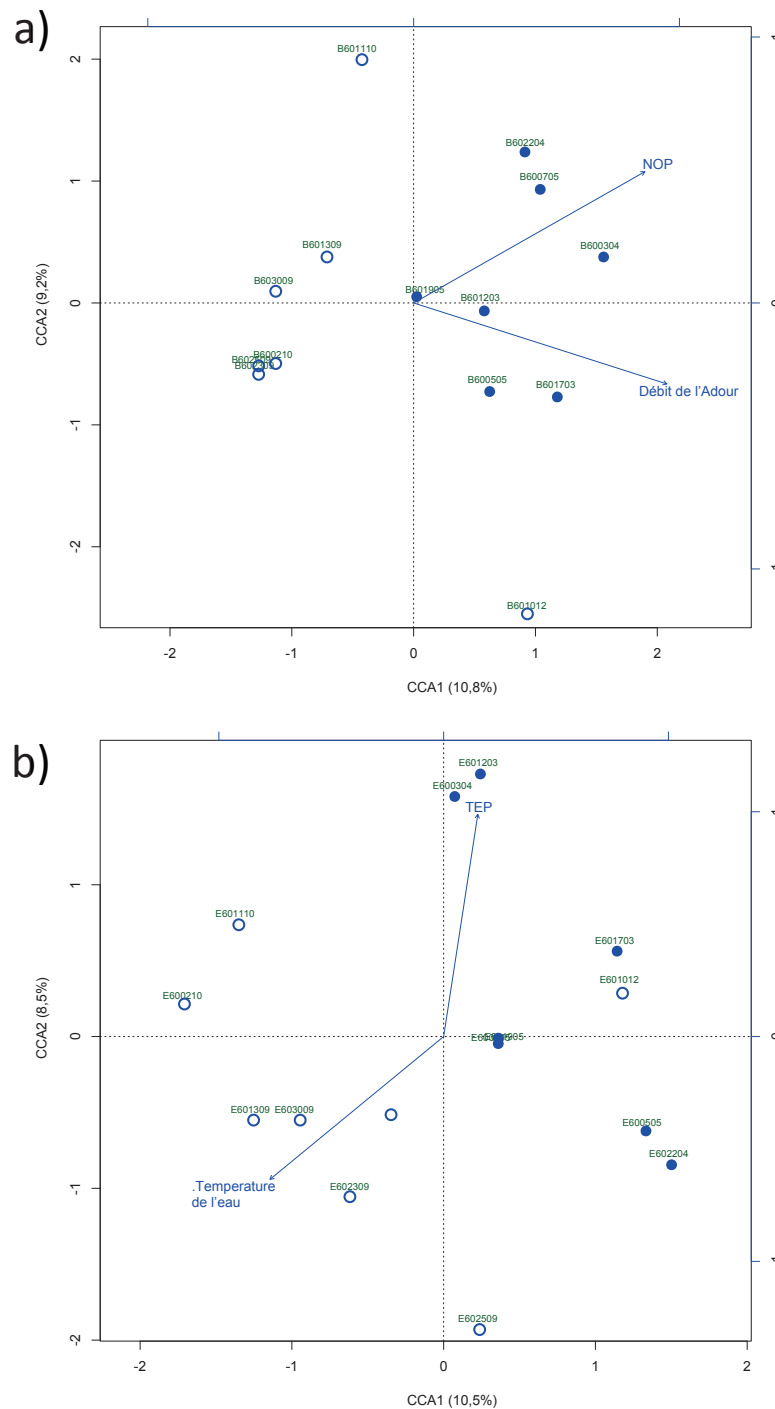


Figure V.9 : Analyse en CCA des communautés bactériennes et eucaryotes de la fraction agrégée du Liga. Seules les variables environnementales significativement explicatives ont été conservées. Les points pleins correspondent à la saison H-P et les points vides correspondent à la saison É-A. B60 et E60 : fractions agrégée du Liga bactériennes et eucaryotes respectivement. Les numéros derrière B60 ou E60 indiquent les dates de prélèvement. a) Bactéries. Les axes CCA1+ CCA2 expliquent 20% de la variation des communautés bactériennes. b) Eucaryotes. Les axes CCA1+ CCA2 expliquent 19% de la variation des communautés eucaryotes.

3. Discussion

3.1. Diversité des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour, de l'eau de mer, et du Liga

Dans ce chapitre nous avons étudié la diversité spécifique des communautés bactériennes et eucaryotes dans l'Adour, dans l'eau de mer tout au long de la colonne d'eau, et dans les différentes fractions du Liga. Par rapport aux chapitres précédents, il y a une disparité entre la richesse observée par la technique d'empreintes moléculaires et la richesse observée par des techniques de séquençage à haut débit. Bien que la T-RFLP soit une technique appropriée pour estimer les variations des communautés microbiennes, celle-ci sous-estime la richesse spécifique (Blackwood et al., 2007). Cette diversité est biaisée car seul un polymorphisme de site de restriction est pris en compte, alors que bien d'autres sites polymorphes sont présents sur le gène codant pour l'ARNr 16S ou 18S, permettant une meilleure identification taxonomique par les techniques de séquençage à haut-débit. De plus, seules les communautés représentant plus de 1% de l'abondance totale sont considérées pour la T-RFLP, alors qu'avec les techniques de séquençage haut débit, seuls les singletons ne sont pas considérés. Ainsi, il n'est pas étonnant de ne pas observer de corrélation entre la richesse obtenue par la technique d'empreintes moléculaires et la richesse obtenue par séquençage à haut-débit. Les deux méthodes sont néanmoins complémentaires, et nous avons obtenu des résultats similaires avec les deux techniques sur la structure générale des communautés microbiennes étudiées.

Cependant, l'estimation de la diversité n'est pas parfaite même avec les techniques de séquençage à haut débit. En effet, cette technique basée sur l'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S ou 18S, peut introduire des biais dus à l'extraction de l'ADN qui n'est pas égale entre les microorganismes (Wintzingerode et al., 1997), aux erreurs de séquençage induites par la *Taq* polymérase (Clarke et al., 2001) et à l'hybridation des amorces qui n'est pas égale pour les différents ADN (Baker et al., 2003). Dans notre étude nous obtenons que très peu d'OTU de diatomées dans les communautés eucaryotes de nos différents compartiments. Nous avons également recherché les espèces de diatomées les plus observées dans les MPM mondiaux (cf.

revue, § I.2.2.2) sans succès. Étant donné l'abondance massive de ce taxon dans les MPM mondiaux, il est peu vraisemblable que les diatomées soient effectivement peu abondantes dans nos échantillons. De plus, des études parallèles en microscopie optique ont montré que les diatomées pouvaient constituer jusqu'à plus de 90% des espèces phytoplanctoniques observées dans les prélèvements de Liga sur la même période d'étude et que l'abondance des dinoflagellés dans ces échantillons était généralement plus faible que celle des diatomées (com. pers. de N. Suspérregui). De plus, Moniz et Kaczmarek (2009) avaient montré qu'il y a peu de variation dans les gènes codant pour l'ARNr 18S eucaryote chez les diatomées, rendant ainsi leur étude plus difficile par des techniques de séquençage à haut débit. Ainsi, l'approche mise en place ici sous-estime la diversité des diatomées présentes dans l'eau de mer et dans le Liga. Godhe et al. ont mis en place en 2008 des amorces ciblant le gène codant pour l'ARNr 16S des diatomées. Il serait ainsi intéressant de les tester sur nos prélèvements, pour savoir si nos résultats obtenus dans cette étude sont dus à un problème technique ou si ils sont conforme à la réalité.

Les communautés eucaryotes de l'Adour étaient dominées par des OTU appartenant aux classes des *Nucleotmycea*, par des OTU appartenant aux trois classes SAR, et des cnidaires et du zooplancton de la classe des *Holozoa*. Ces groupes taxonomiques eucaryotes sont communément retrouvés dans les rivières en région tempérée (Richards and Bass, 2005). La composition des communautés eucaryotes de l'eau de mer étaient dominées par les classe des *Holozoa* (phylum *Opisthokonta*) et des *Alveolata* (phylum SAR), contenant principalement des OTU correspondant à des espèces zooplanctoniques, des cnidaires, et des dinoflagellés. Ainsi, il semblerait que la composition de l'eau de mer au large de Biarritz soit peu différente du reste des océans, dans lesquels les mêmes taxons sont observés, parfois dans les mêmes proportions (Lovejoy et al., 2006; Massana and Pedrós-Alió, 2008; Moon-van der Staay et al., 2001). De plus, le phylum des *Haptophyta* n'a été détecté que dans ces compartiments, ce qui n'est pas étonnant car selon Richards et Bass (2005) ce phylum s'observe exclusivement dans l'eau de mer, bien que selon Massana (2008), ce phylum apparaîtrait plutôt dans les eaux au large que dans les eaux côtières. Les *Haptophytes*, connus pour être présent dans cette région (Not et al., 2012), ont également été détectés dans cette étude. Les trois fractions du Liga sont dominées par le zooplancton, les cnidaires et les dinoflagellés.

L'abondance des deux premiers taxons pourrait provenir de notre technique de prélèvement, et ne font probablement pas partie du Liga tel que nous l'avons décrit. En effet, nous avons récupéré le Liga avec un filet à plancton, qui a probablement piégé le zooplancton avec les agrégats de Liga, bien que ceci ne se soit pas vu à l'œil nu. Cependant, les MPM sont connus pour agréger du zooplancton qui vient se nourrir du phytoplancton et du bactérioplancton agrégé (Bochdansky and Herndl, 1992; Green and Dagg, 1997). Concernant les dinoflagellés, ceux-ci avaient déjà été décrits comme abondant dans les MPM, représentant quelques fois les organismes eucaryotes majoritaires (Alldredge et al., 1998; MacKenzie et al., 2002).

Les communautés bactériennes de tous les compartiments sont dominées par les phyla des *Proteobacteria* et des *Bacteroidetes*. La classe des *Betaproteobacteria* est plus abondante dans l'Adour que dans l'eau de mer, ce qui correspond aux observations précédemment décrites des communautés de bactérioplancton des rivières tempérées (Crump and Hobbie, 2005; Hahn, 2006). Dans l'eau de mer, et dans le Liga, les communautés bactériennes sont dominées par la classe des *Alphaproteobacteria*, et notamment par le clade SAR11. Découvert récemment, ce clade est ubiquiste dans les océans où il y est en général très abondant. La classe des *Flavobacteria* est également très abondante dans l'eau de mer dans notre zone d'étude, comme dans les autres océans (Kirchman, 2002). De façon intéressante, nous observons une abondance relative de *Gammaproteobacteria* plus élevée dans les fractions du Liga, et cette classe est une des classes retrouvée enrichie dans les MPM « fraîchement formés » en mer Adriatique (Blažina et al., 2011). De plus, les formes observées de Liga du sud du Golfe de Gascogne ne dépassent jamais les stades de « floes » ou de « filaments » qui sont les premiers stades de développement des MPM (Precali et al., 2005). Ainsi, nous pouvons supposer que le Liga apparaissant dans le sud du Golfe de Gascogne est un jeune MPM. Ce Liga n'aurait probablement pas le temps d'évoluer vers des stades plus avancés comme les MPM observés en mer Adriatique, à cause de la forte houle présente sur cette zone entraînant probablement sa désagrégation constante.

L'abondance relative des taxons eucaryotes identifiés dans le Liga varie peu de celle observée pour les taxons eucaryotes de l'eau de mer. Cependant, les communautés des deux types de compartiments sont significativement différentes. Il faudrait donc approfondir le détail des espèces observées dans chaque

compartiment pour mieux comprendre la structure des communautés bactériennes du Liga vis à vis des communautés bactériennes présentes dans l'eau de mer.

3.2. Évolution saisonnière des communautés bactériennes et eucaryotes de l'Adour, des compartiments marins, et des fractions du Liga et paramètres environnementaux gouvernant leur composition

Bien que les classes taxonomiques abondantes soient les mêmes, les communautés eucaryotes d'eau de mer présentent des différences significatives entre les saisons É-A et H-P. Comme nous l'avons déjà discuté dans les chapitres précédents, ces variations suivent des variations saisonnières classiques observées dans les rivières et l'eau de mer des régions tempérées, dues aux variations du climat et d'apports en nutriments annuels (Crump and Hobbie, 2005; Gilbert et al., 2012). Les communautés bactériennes de la fraction agrégée du Liga sont dirigés par la concentration en NOP et les débits de l'Adour, plus élevés au printemps. Les débits de l'Adour sont eux-mêmes corrélés avec la concentration en sels nutritifs et en MES, qui sont déjà reconnus comme les principaux facteurs environnementaux structurant les communautés microbiennes du Golfe de Gascogne (Borja and Collins, 2004). Ces résultats sont des résultats très similaires à ceux obtenus en T-RFLP sur les facteurs environnementaux dirigeant la structure des communautés bactériennes de l'eau de mer. La concentration en TEP et la température de l'eau sont les principaux facteurs gouvernant la structure des communautés eucaryotes de la fraction agrégée du Liga. Le printemps est la saison à laquelle la production primaire est maximale dans le Golfe de Gascogne (Marquis et al., 2007) et la température de l'eau va jouer un rôle fondamental dans la structure des communautés microbiennes car la multiplication de ces microorganismes est dépendante de la température (Price and Sowers, 2004). Il a notamment été montré que la température est l'un des paramètres environnementaux majeurs dirigeant le clade bactérien SAR11 (Brown et al., 2012). De plus Danovaro et al. (2009) avaient

indiqué que l'apparition de MPM dépendait d'une anomalie positive de la température. De même, Artolozaga et al. (2000) avaient montré que de l'eau du Golfe de Gascogne incubée à une température plutôt dans la moyenne haute des températures rencontrées dans le Golfe de Gascogne (20-25°C) donnait naissance en 2-3 jours à des agrégats qui pourraient par la suite devenir du Liga.

Ainsi, l'étude des communautés microbiennes de l'eau de mer, de l'Adour et du Liga nous conduit aux mêmes conclusions que celles obtenues dans les chapitres précédent, à savoir qu'il n'y a pas de différence de diversité ou de composition dans les communautés bactériennes et eucaryotes le long de la colonne d'eau mais qu'en revanche ces communautés, comme celles du Liga, sont soumises à des variations saisonnières. De plus, la structure et la composition des communautés microbiennes du Liga et de l'Adour sont différentes de celle des communautés de l'eau de mer.

- Chapitre VI -

**Diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la
PMCa avant et pendant l'apparition du Liga,
et de la fraction agrégée du Liga
fraichement formée**

1. Introduction

Les microorganismes sont le fondement de la biosphère de notre planète et jouent un rôle fonctionnel essentiel et unique dans les écosystèmes marins. Ils sont notamment impliqués dans les grands cycles biogéochimiques tels que le cycle du carbone (Falkowski et al., 2000), le cycle de l'azote (Wuchter et al., 2006), le cycle du soufre (Andreae, 1990), le cycle du phosphore (Paytan and McLaughlin, 2007), et le cycle des métaux trace (Morel and Price, 2003). Comprendre la structure et les fonctions des communautés microbiennes peut ainsi nous donner des informations sur les changements climatiques, les perturbations de l'environnement marins et les risques sanitaires potentiels.

Nous avons vu dans le chapitre précédent que le Liga était composé principalement de microorganismes marins, mais aussi que l'abondance relative des populations vivant dans le Liga était différente de celle des populations d'eau de mer. Qu'en est-il de la diversité fonctionnelle ? Peut-on s'attendre à ce que les communautés microbiennes du Liga jouent un rôle écologique différent des communautés marines ?

Dans ce chapitre nous étudierons donc la diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée de Liga dans le début de sa période de formation, en automne et au printemps, à la station de prélèvement de Biarritz. Pour cela nous avons sélectionné trois échantillons pour chaque saison : (i) un échantillon d'eau de mer à la PMCa précédent l'apparition du Liga, (ii) un échantillon d'eau de mer à la PMCa le jour de l'apparition saisonnière du Liga, et (iii) l'échantillon de fraction agrégée du Liga correspondant. Chaque réplicat a été testé par la technique de GeoChip indépendamment des autres. Les résultats ont ensuite été moyennés par triplicats.

2. Résultats

2.1. Répartition et diversité des différentes catégories de gènes fonctionnels dans l'eau de mer à la PMCa et dans le Liga aux saisons É-A et H-P.

Au total, 100745 gènes fonctionnels différents ont été identifiés dans les échantillons testés. Parmi ces gènes fonctionnels détectés dans l'ensemble des échantillons, il y a 3075 gènes archéens, 89680 gènes bactériens, 6142 gènes eucaryotes, 1319 gènes viraux et 529 gènes non-affiliés. La diversité des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et du Liga a été mise en évidence par l'indice de Shannon. Cela a permis de montrer que la diversité fonctionnelle de la fraction agrégée du Liga était significativement plus faible que la diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa pour les deux saisons É-A et H-P (figure VI.1).

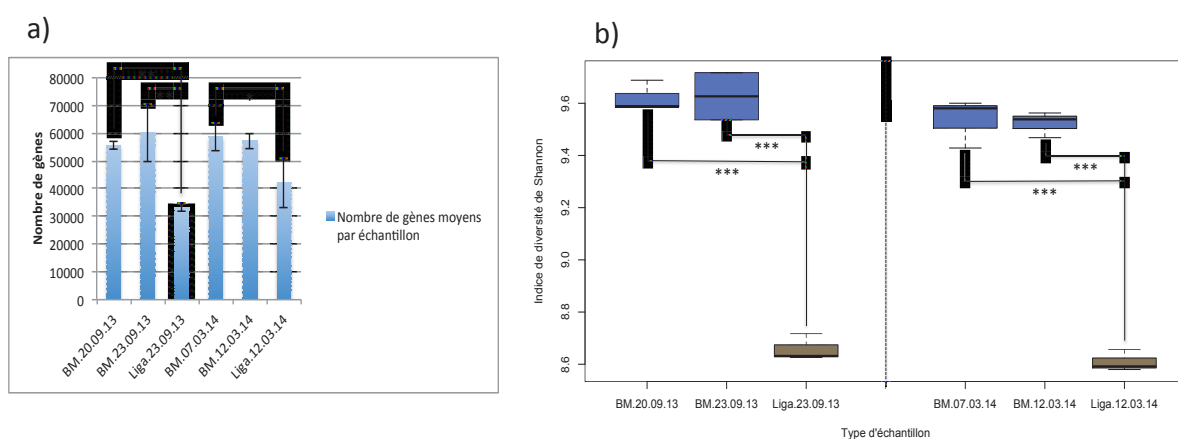


Figure VI.1 : Comparaison des richesses et des indices de diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga pour les saisons É-A et H-P. a) Abondance totale moyenne des gènes révélés dans les différents échantillons. b) Analyse des variations de diversité fonctionnelle entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga pour les saisons É-A et H-P. Les différences significatives entre les échantillons ont été calculées par un test de Tukey. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

Les gènes identifiés sont des gènes impliqués dans le cycle du carbone (16607 gènes), le cycle de l'azote (4356 gènes), le cycle du phosphore (2106 gènes), le

cycle du soufre (2939 gènes) le transfert d'électron (556 gènes), l'homéostasie des métaux (26773 gènes), la remédiation organique (8081 gènes), le métabolisme secondaire (2503 gènes), la résistance au stress (16069 gènes), la virulence (13901 gènes), des gènes de virus procaryotes et eucaryotes (1329 gènes) et une catégorie de gènes que l'on appellera « autres » (5525 gènes) qui contient principalement des gènes CRISPR, impliqués dans la résistance procaryote contre les virus (Barrangou et al., 2007) et le gène *gyrB* qui est un gène universel bactérien possédant un fort taux de mutation qui est utilisé dans la recherche de l'identification et de l'évolution des communautés bactériennes (Li et al., 2008).

Parmi ces douze catégories de gènes, des différences significatives sont observées entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga pour trois catégories. En effet, pour les saisons É-A et H-P, le nombre de gènes de résistance au stress est significativement plus faible dans le Liga alors que le nombre de gènes de virulence y est significativement plus élevé. Il a également été mis en évidence que les gènes impliqués dans le métabolisme secondaire étaient plus nombreux dans le Liga que dans l'eau de mer pour la saison É-A (figure VI.2).

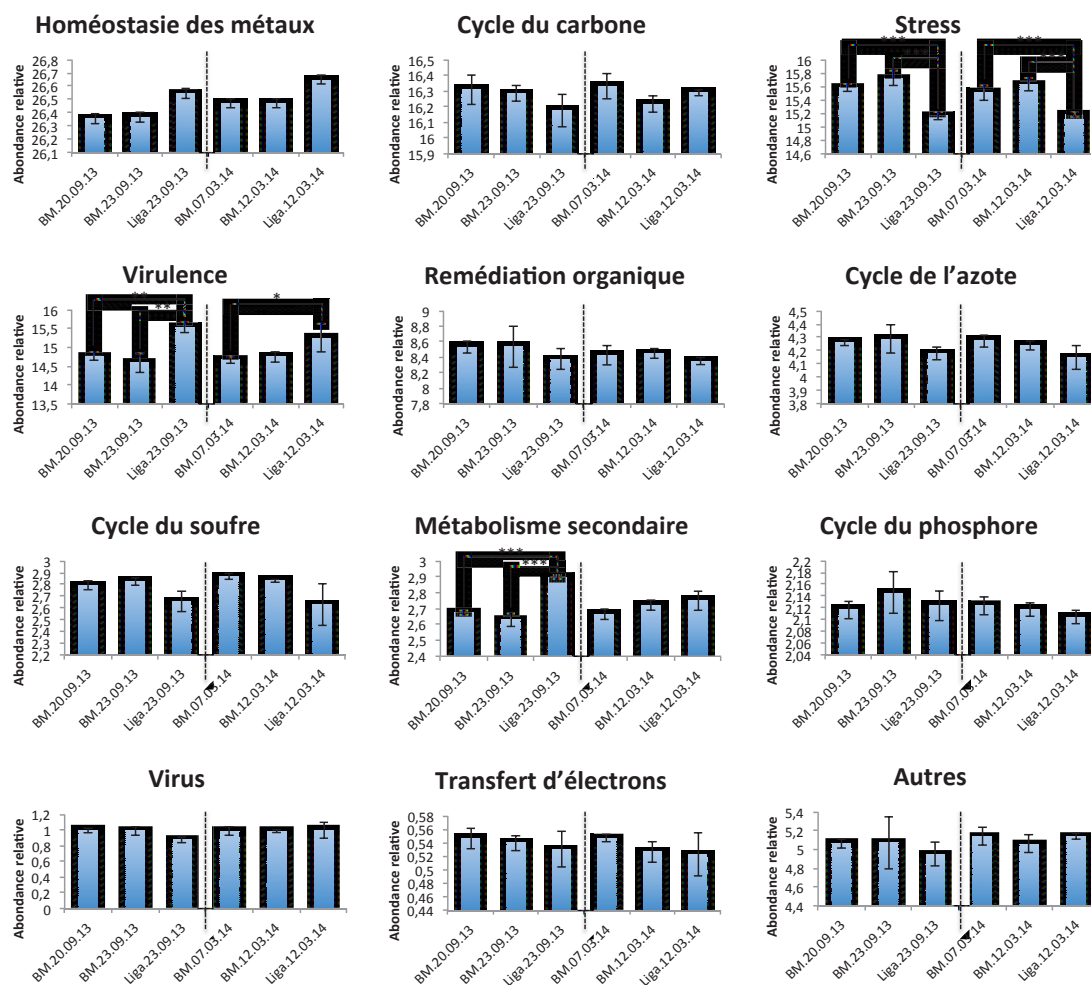


Figure VI.2 : Abondance relative et diversité des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga. Les catégories de gènes fonctionnels sont présentées du plus abondant au moins abondant (de en haut à gauche à en bas à droite), à l'exception de la catégorie « Autres » qui a été placée à la fin. Les différences significatives entre les échantillons ont été calculées par un test de Tukey. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$ et *** : $p < 0,001$.

2.2. Variation des gènes fonctionnels entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga

L'analyse en PCoA révèle que la composition des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa est plus proche entre ces échantillons qu'avec les échantillons de la fraction agrégée du Liga, indépendamment des saisons (figure VI.3). Ce résultat est confirmé par l'analyse en cluster sur lequel les échantillons d'eau de mer sont moins distants entre eux qu'avec les échantillons de fraction agrégée de Liga (figure VI.4). Le SIMPROF-test sépare les échantillons d'eau de mer à la PMCa en deux clusters : un cluster correspondant à la saison É-A et un autre correspondant à la

saison H-P. A l'inverse, la diversité fonctionnelle de la fraction agrégée du Liga est très peu similaire de celle de l'eau de mer. Elle est différente aussi selon les saisons. Dans l'analyse en cluster, aucune des deux communautés de la fraction agrégée du Liga ne se regroupe en cluster avec une autre.

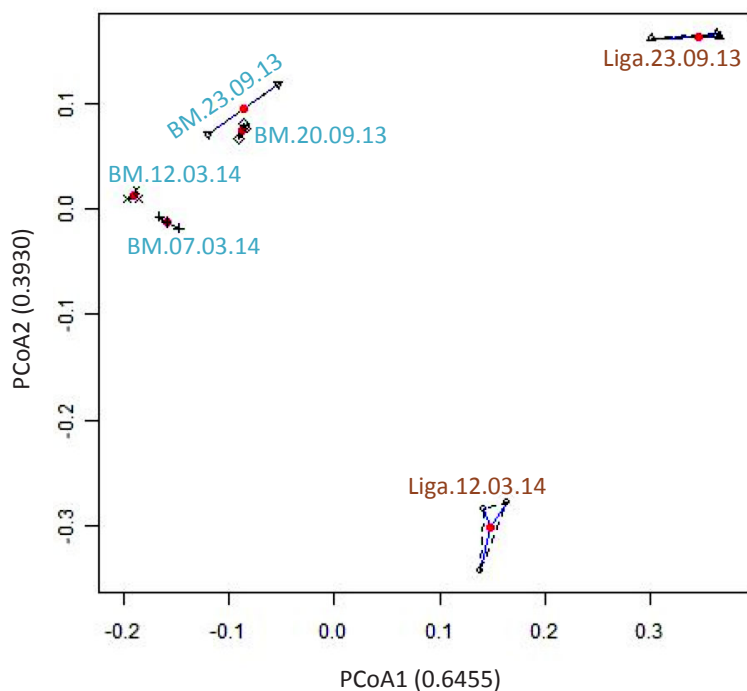


Figure VI.3 : Analyse en PCoA des gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga pour les saisons É-A et H-P. Les points noirs correspondent aux réplicats des échantillons et le barycentre de chaque lot de réplicats est représenté par un point rouge. BM : prélèvement de Biarritz à la PMCa en mer, Liga : fraction agrégée du Liga. Les dates de prélèvement sont indiqués pour chaque échantillon.

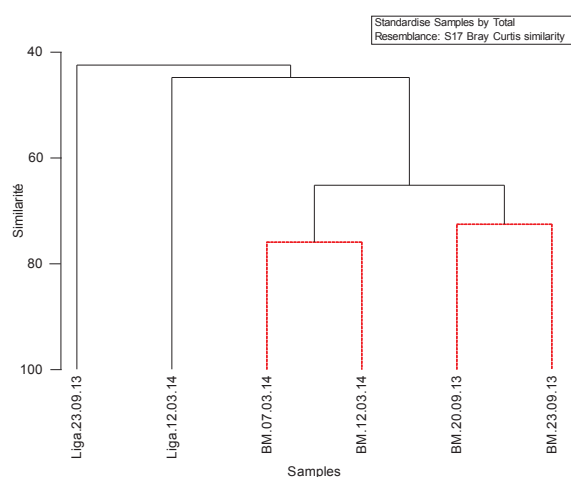


Figure VI.4 : Analyse en cluster de la diversité fonctionnelle de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga. Les branches de l'arbre ont été testées par SIMPROF-test et les branches se trouvant significativement dans le même cluster sont indiquées en rouge.

Les gènes partagés par l'eau de mer et le Liga selon les saisons É-A et H-P ont été mis en évidence par un diagramme de Venn (figure VI.5). 40% des gènes sont communs aux deux échantillons d'eau de mer à le PMCa pendant la saison É-A et 47% des gènes sont en commun aux deux échantillons d'eau de mer à le PMCa pour la saison H-P. Pour les deux saisons, les deux échantillons d'eau de mer partagent également beaucoup de gènes, 21% des gènes pour la saison É-A et 15% des gènes pour la saison H-P plus exactement. Le Liga n'a que peu de gènes fonctionnels qui lui sont propres. Ces gènes représentent 2,7% des gènes totaux pour le Liga de la saison É-A et 5,3% des gènes totaux pour la saison H-P. Le nombre de gènes partagés entre le Liga et l'échantillon d'eau de mer prélevé le même jour qui ne sont pas commun avec l'échantillon d'eau de mer prélevé quelques jours plus tôt est également faible (2,3% pour chaque saison). De plus, à la saison H-P le nombre de gènes partagés entre le Liga et l'eau de mer prélevée quelques jours avant est plus élevé que le nombre de gènes communs entre le Liga et l'eau de mer prélevée le même jour et représente 3,6% des gènes (contre 2,3% entre le Liga et l'eau de mer prélevée le même jour).

Les gènes impliqués dans le cycle du carbone et dans l'homéostasie des métaux sont très abondants dans toutes les comparaisons effectuées et leur abondance relative varie peu. Les catégories de gènes variant le plus entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga sont les gènes viraux, les gènes du cycle du soufre, les gènes du cycle du phosphore et les gènes de la catégorie « Autres ». La variation de gènes fonctionnels entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga n'est pas la même selon les saisons. Dans les gènes communs aux deux échantillons d'eau de mer et à l'échantillon de Liga correspondant, la catégorie de gènes « Autres » est plus abondante à la saison É-A. À cette saison, les deux prélèvements d'eau de mer à la PMCa partagent également des gènes viraux. La distribution des gènes pour les autres comparaisons est proche de la distribution moyenne des gènes de l'ensemble des prélèvements réunis. À la saison H-P, l'abondance relative des gènes de virus est plutôt présente dans le prélèvement d'eau de mer de Biarritz du 12 Mars, correspondant au premier jour où le Liga a été observé pour cette période. Les gènes du cycle du soufre sont plus abondants entre les deux prélèvements d'eau de mer que dans toutes les autres comparaisons.

Concernant les autres catégories de gènes, leur abondance relative est similaire pour toutes les comparaisons.

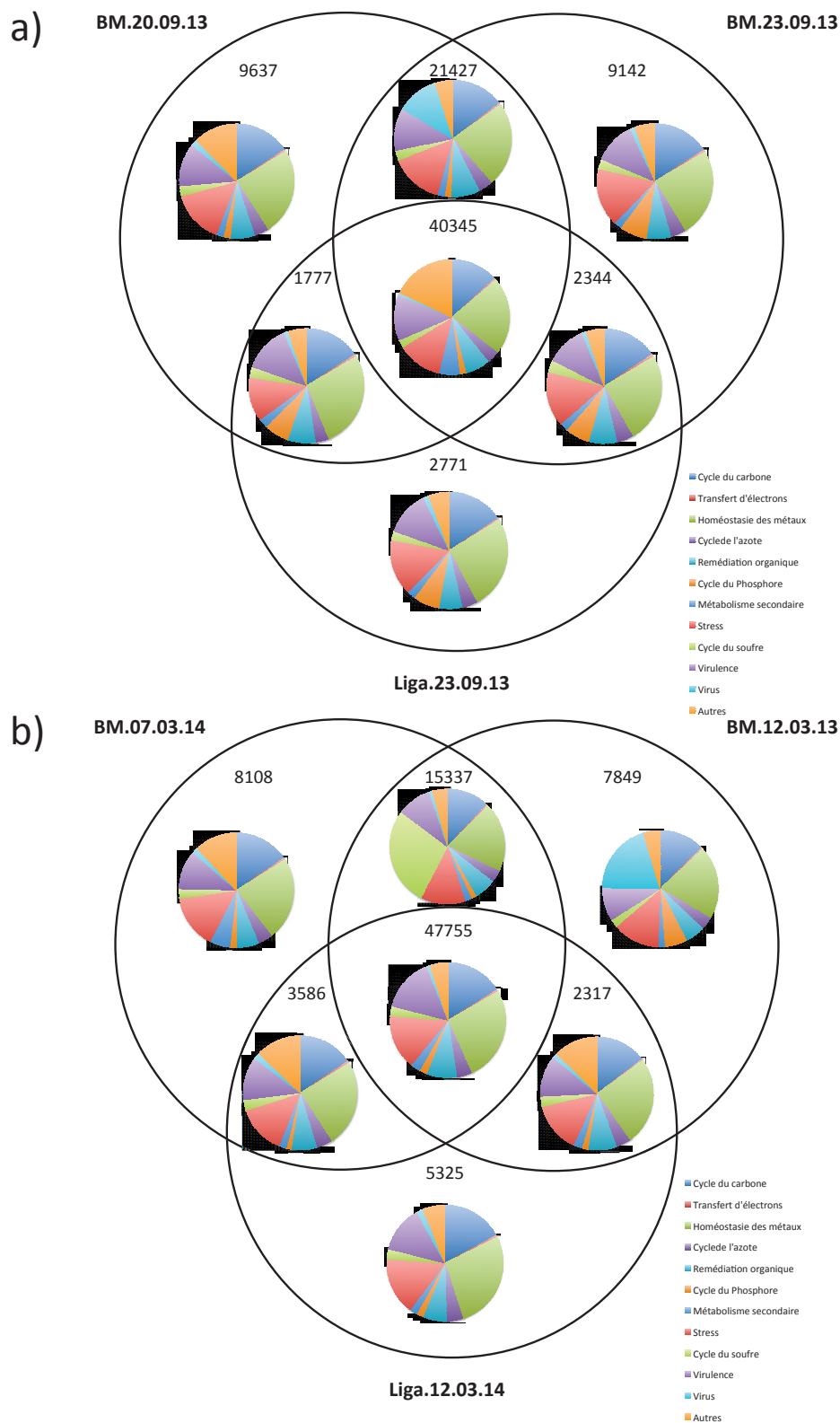


Figure VI.5 : Diagrammes de Venn présentant la répartition des douze catégories gènes fonctionnels dans l'eau de mer et dans le Liga pendant les saisons É-A et HP. BM : eau de mer à

la PMCa, Liga : fraction agrégée du Liga. Les dates de prélèvement sont indiquées derrière le nom des échantillons. Les chiffres dans les cercles indiquent le nombre de gènes communs pour chaque comparaison. a) saison É-A, b) saison H-P.

Le lien entre les catégories de gènes fonctionnels et les paramètres environnementaux a été établi par une CCA (figure VI.6). L'abondance de gènes du cycle du carbone n'est soumise à aucun paramètre environnemental testé. L'abondance de gènes de métabolisme secondaire et de virulence est dirigée principalement par une concentration en EPS plus élevée. L'abondance des gènes d'homéostasie des métaux et des « autres » gènes est liée à la fois aux concentrations en EPS en NOP plus élevées. L'abondance des autres gènes est dirigée principalement par une température de l'eau et une concentration en NOP plus élevée.

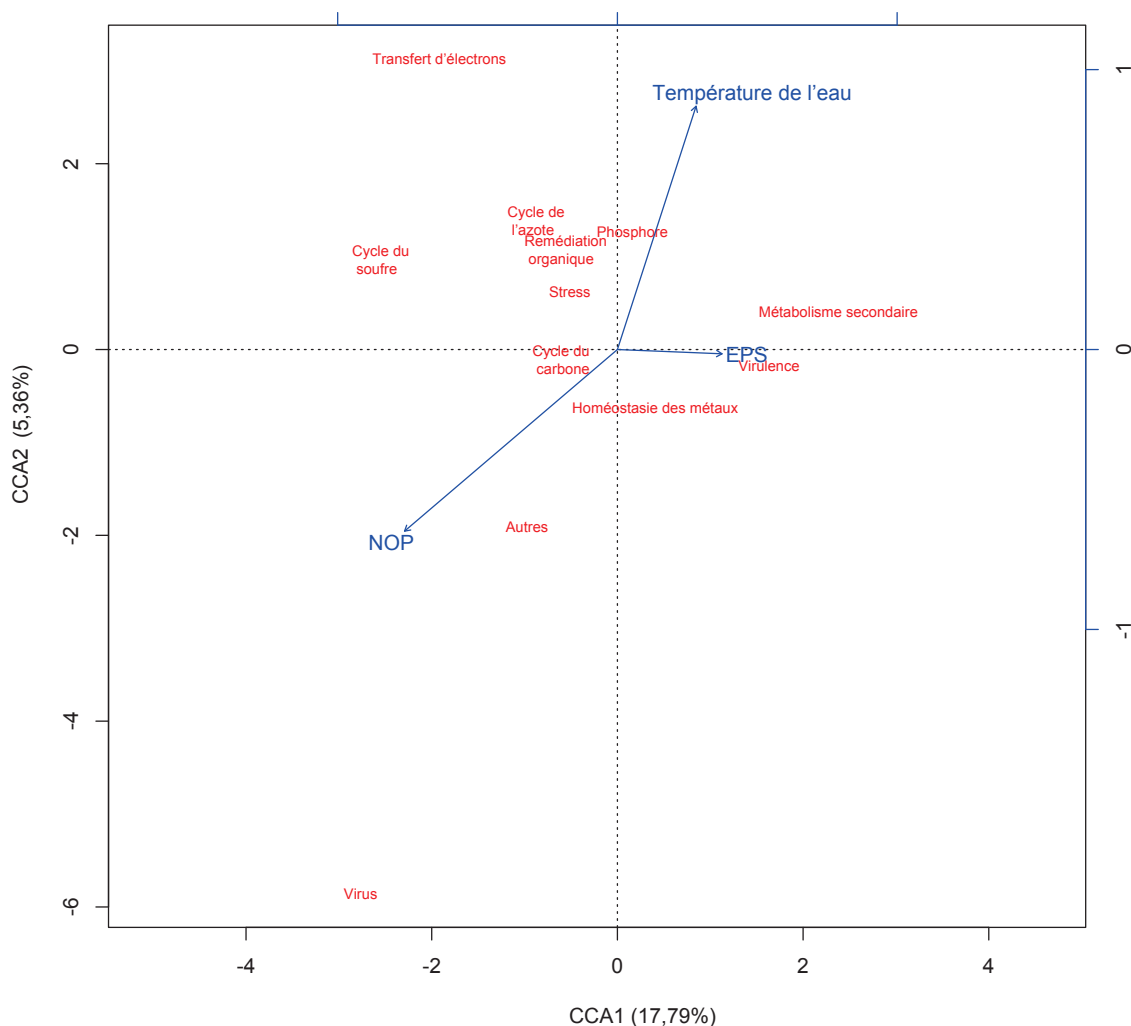


Figure VI.6 : Analyse en CCA des catégories de gènes fonctionnels de l'eau de mer à la PMCa et de la fraction agrégée du Liga. Les axes CCA1+ CCA2 expliquent 23,15% de la variation des communautés eucaryotes. Trois variables environnementales ont été sélectionnées manuellement pour l'analyse en fonction de leur corrélation avec les autres variables environnementales.

2.3. Répartition des gènes viraux et des catégories de gènes différentes entre l'eau de mer à la PMCa et la fraction agrégée du Liga pendant les saisons É-A et H-P.

Parmi les gènes viraux observés, 68,4% des gènes appartiennent à des virus ciblant les procaryotes et 31,3% des gènes appartiennent à des virus ciblant les eucaryotes (figure VI.7).

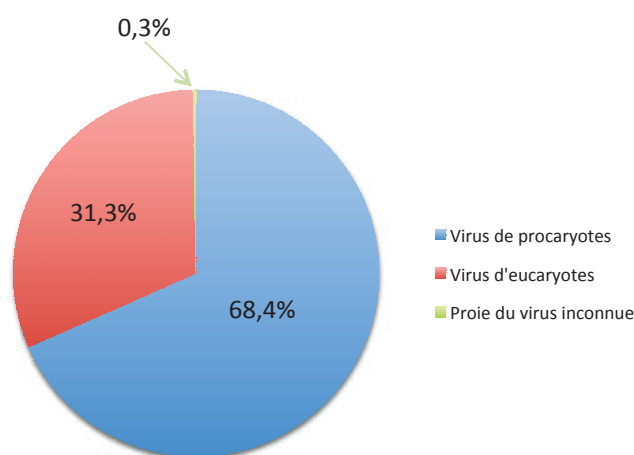


Figure VI.7 : Abondance relative des gènes viraux en fonction des hôtes « cibles » identifiés dans l'eau de mer à la PMCa et dans la fraction agrégée du Liga.

Parmi les catégories de gènes dont l'abondance relative était significativement différente entre les communautés de l'eau de mer à la PMCa et les communautés des fractions agrégées du Liga, nous avons recherché quels gènes avaient une abondance relative significativement différente.

La catégorie des gènes de métabolisme secondaire était significativement plus abondante dans le Liga que dans l'eau de mer pendant la saison É-A (cf. § 2.1). Plus précisément, trois sous-catégories de gènes ont une abondance relative plus élevée dans le Liga pendant la saison É-A : des gènes codant pour des pigments eucaryotes, des gènes codant pour des enzymes anti-oxydantes et des gènes codant pour des hormones végétales (figure VI.8). Ces derniers sont également significativement plus abondants dans l'eau de mer le jour de l'apparition du Liga de la saison H-P que dans l'eau de mer avant l'apparition du Liga.

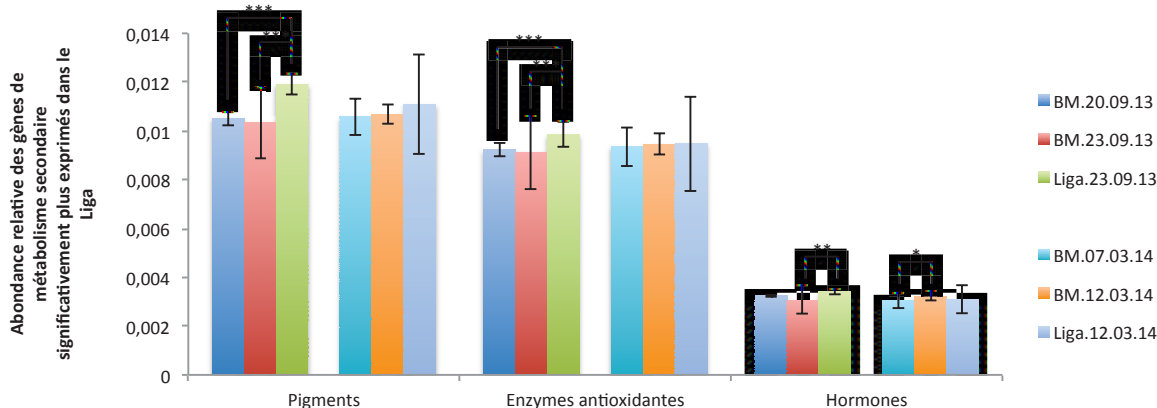


Figure VI.8 : Répartition des gènes de métabolisme secondaire significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A.

La catégorie des gènes de résistance au stress était significativement moins abondante dans le Liga que dans l'eau de mer pendant les saison É-A et H-P (cf §2.1). Cinq sous-catégories de gènes ont une abondance relative différente entre les communautés d'eau de mer et les communautés de la fraction agrégée du Liga. Les gènes de résistance au stress de l'enveloppe, les gènes de choc thermique et les gènes de résistance à la limitation en azote sont significativement moins abondants dans les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant la saison É-A. Pendant la saison H-P, les gènes significativement moins abondants sont les gènes de stress oxydatif, les gènes codant pour des facteurs sigma et, comme pendant la saison É-A, les gènes de résistance à la limitation en azote (figure VI.9).

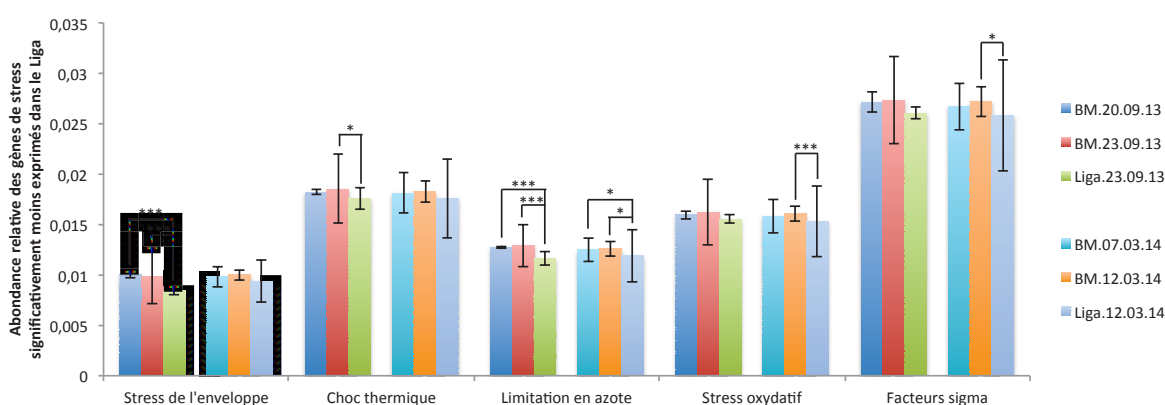


Figure VI.9 : Répartition des gènes de résistance au stress significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A.

La catégorie des gènes de virulence était significativement plus abondante dans le Liga que dans l'eau de mer pendant les saisons É-A et H-P (cf. § 2.1). Quatre sous-catégories de gènes ont une abondance relative différente entre les communautés d'eau de mer et les communautés de la fraction agrégée du Liga. Les gènes de résistance aux antibiotiques, qui sont de loin les gènes les plus abondants dans la catégorie « gènes de virulence », sont significativement plus abondants dans la fraction agrégée du Liga de la saison É-A. Les gènes de dégradation du carbone, et plus particulièrement des gènes impliqués dans la production de cyanure, sont significativement plus abondants dans la fraction agrégée du Liga de la saison H-P. Concernant les autres sous-catégories de gènes de virulence, les gènes codant pour les systèmes de sécrétion de type III et VI sont significativement moins abondants dans la fraction agrégée du Liga à la saison É-A (figure VI.10).

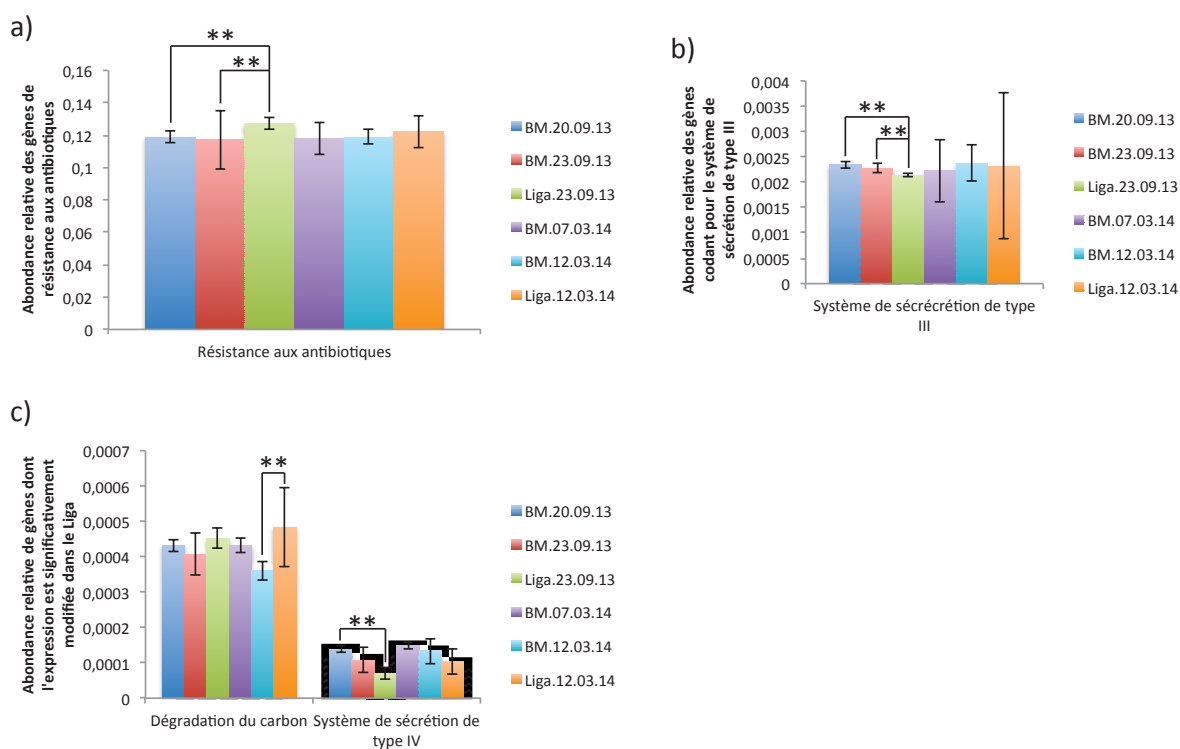


Figure VI.10 : Répartition des gènes de virulence significativement différents entre les communautés d'eau de mer à la PMCa et les communautés de la fraction agrégée du Liga pendant les saisons H-P et É-A. Les gènes de virulence dont l'abondance relative varie significativement entre les communautés d'eau de mer et les communautés de la fraction agrégée du Liga ont été présentés sur trois graphes différents à cause de la variation d'échelle entre les différents gènes présentés. a) gènes de résistance aux antibiotiques, b) gènes codants pour le système de sécrétion de type III, c) gènes de dégradation du carbone et gènes codant pour la système de sécrétion de type IV.

3. Discussion

Dans ce chapitre nous avons étudié la diversité fonctionnelle de prélèvements d'eau de mer juste avant l'apparition du Liga, d'eau de mer le jour d'apparition du Liga, et de la fraction agrégée du Liga le premier jour de son apparition, sur les périodes printanière de 2014 et automnale de 2013. En accord avec les résultats des chapitres précédents, dans lesquels nous avons observé une diversité spécifique plus réduite dans la fraction agrégée du Liga, nous observons également dans ce chapitre une réduction de la diversité fonctionnelle. Lorsque l'on regarde l'ensemble des communautés étudiées, les communautés microbiennes de l'eau de mer présentent une diversité fonctionnelle très similaire au sein d'une même saison. La diversité fonctionnelle est aussi plus similaire dans les différents prélèvements d'eau de mer sur l'année de suivi qu'elle ne l'est avec la diversité fonctionnelle de la fraction agrégée du Liga, pour la même saison, et globalement sur l'année. En effet, les dynamiques fonctionnelles entre le Liga et l'eau de mer et entre les deux périodes de Liga sont très distinctes, présentant ainsi plus de variations que les variations saisonnières prédites dans l'eau de mer des régions tempérées (Fuhrman, 2009). Malgré la différence de saisons, il est étonnant d'observer des dynamiques fonctionnelles si différentes entre les deux échantillons de Liga, car le but des communautés bactériennes agrégées est sensé être le même : se nourrir de cette matrice enrichie en matière organique (Alldredge et al., 1998; Azam and Malfatti, 2007; Del Negro et al., 2005). Cependant, cette différence pourrait s'expliquer par la différence de diversité spécifique entre les prélèvements de Liga d'automne et de printemps mise en évidence dans le chapitre précédent. De plus, les différences de diversité fonctionnelle du Liga se trouvent dans les gènes peut abondants (2,7% des gènes en automne et 5,3% des gènes au printemps). Ainsi, les différences de potentiel métabolique entre les deux Liga reste très faible.

Parmi les catégories de gènes testées, seuls les gènes de stress, les gènes de virulence, et les gènes du métabolisme secondaire étaient présents en quantité différente entre l'eau de mer et le Liga. Bien qu'il ne soit pas étonnant de voir l'abondance relative de ces gènes varier entre les deux compartiments, nous nous attendions aussi à trouver des différences d'abondance dans les gènes impliqués dans les cycles biogéochimiques, notamment dans les gènes du cycle du carbone, du cycle de l'azote et du cycle du phosphore. En effet, Del Negro et al. (2005)

avaient montré que les bactéries présentes dans la matrice des MPM avaient une capacité à métaboliser les molécules carbonées, les acides aminés et les molécules phosphatées en moyenne dix fois supérieure à ce qui était observé dans l'eau de mer. Étant donné la présence d'organismes communs dans le Liga (cf. chapitres précédents), ceci peut expliquer que nous n'observons pas de différences d'abondance relative dans ces gènes. De ce fait, si nous avons effectivement une dégradation importante des composés carbonés, azotés et phosphorés dans le Liga, la régulation de ce métabolisme pourrait s'effectuer au niveau transcriptionnel, traductionnel ou post-traductionnel. Les gènes de virus les plus abondants dans les différents compartiments sont des virus ciblant les procaryotes, ce qui est classiquement observé dans les océans (Suttle, 2007). De plus, notre région d'étude est dans une zone connue pour être riche en virus bactériens, leur l'abondance étant de deux à dix fois plus élevée que dans d'autres régions (Parada et al., 2007).

Dans les paramètres environnementaux testés, la concentration en EPS semble être le facteur déterminant dans l'organisation des gènes fonctionnels du Liga, car il dirige deux des trois catégories de gènes responsable de la divergence observée entre l'eau de mer et la Liga. Les gènes codant pour des pigments, des enzymes anti-oxydantes et pour des hormones végétales sont plus abondants dans les communautés microbiennes de la fraction agrégée du Liga que dans les communautés microbiennes dans l'eau de mer pendant la saison É-A. Les pigments sont essentiels à la réaction de photosynthèse car ils permettent la captation de la lumière (Falkowski and Kiefer, 1985). Or dans le Liga, les cellules phytoplanctoniques sont agrégées et ont ainsi un accès à la lumière plus restreint. Nous pouvons donc supposer que l'abondance plus élevée des gènes de pigments est le reflet de la sélection d'espèces phytoplanctoniques possédant de meilleures capacités de photo-acclimatation leur permettant ainsi d'assurer leur métabolisme photosynthétique malgré une irradiation plus faible (MacIntyre et al., 2002). Les gènes codant pour des enzymes anti-oxydantes, également plus abondants dans le Liga, sont impliqués dans la détoxification cellulaire (Storz et al., 1990). En effet, vivant en mode de vie agrégé, les microorganismes enchâssés dans le Liga produisent des déchets cellulaires qui peuvent rester piégés dans la matrice du Liga. Ainsi, les microorganismes possédant plus de capacités de détoxification auront de meilleures chances de résister dans le Liga comme c'est déjà le cas dans les MPM

(Demple, 1991). De plus, les communautés microbiennes du Liga possèdent moins de gènes liés au stress oxydatif que les communautés de l'eau de mer. Ainsi, il est possible qu'au sein du Liga, les communautés microbiennes favorisent la détoxification plutôt que la résistance pour pallier aux stress oxydatifs.

Les gènes d'hormones végétales interviennent dans la communication cellulaire entre les végétaux, tel que le phytoplancton, et les bactéries (Zhang et al., 2012) ou les champignons (Prusty et al., 2004). Or le Liga est un concentrateur de microorganismes sous forme agrégée (cf. revue, § I.2.2.2). Étant donné que ces résultats ont été obtenus dans des échantillons de Liga «jeunes», il est donc possible que ces gènes soient impliqués dans le mécanisme même d'agrégation. Alternativement, ils pourraient être également impliqués dans les relations entre le phytoplancton et les bactéries ou les champignons pendant la phase d'agrégation.

Le potentiel virulent du Liga pourrait être plus élevé que celui de l'eau de mer car on y trouve plus de gènes impliqués dans la production de molécules toxiques, telles que le cyanure. Ainsi, le Liga concentrerait potentiellement les bactéries et les champignons pathogènes capables de produire des molécules toxiques (Knowles, 1976; Sexton and Howlett, 2000). De même, les gènes de résistance aux antibiotiques sont plus abondants dans le Liga que dans l'eau de mer environnante, et des T-RF communs avaient été détectés entre le Liga et l'eau de l'Adour (cf. chapitres précédents). De plus, nous avons vu dans le chapitre précédent que le Liga concentre des *Gammaproteobacteria*, classe qui contient de nombreuses bactéries pathogènes comme notamment les entérobactéries. Ainsi, le Liga pourrait concentrer des bactéries fécales potentiellement pathogènes comme il a déjà été démontré pour les MPM (Cooke, 1976; Danovaro et al., 2009; Rhodes and Kator, 1988). Il est également possible que ces gènes de virulence en surnombre par rapport à l'eau de mer témoignent d'une compétition entre microorganismes pour la colonisation et la survie dans le Liga. Ce scénario concorderait avec la baisse de diversité dans le Liga, observée dans les chapitres précédents.

Les antibiotiques, largement utilisés en santé humaine mais aussi en santé animale dans les élevages, sont responsables du développement de plus en plus problématique des bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'environnement (Mobashery and Eduardo Jr, 1999). Ces bactéries résistantes s'accumulent dans les eaux usées et se retrouvent ensuite dans les rivières qui se jettent dans l'océan

(Baquero et al., 2008). La présence de bactéries résistantes aux antibiotiques pourrait donc être aussi un témoin de pollution fécale des eaux côtières (Al-Bahry et al., 2009). Les systèmes de sécrétion de type III et VI sont des injectisomes, impliqués dans la virulence des bactéries envers les animaux et les végétaux, ils sont aussi impliqués dans la protection des végétaux (Marchi et al., 2013).

Le Liga doit être une niche écologique favorisant le développement de bactéries moins résistantes aux stress environnementaux, car les gènes codant pour la résistance au stress σ sont moins abondants. En effet, l'abondance des gènes codants pour les facteurs sigma est plus faible dans la fraction agrégée du Liga que dans l'eau de mer. Les facteurs sigma sont impliqués dans l'expression des gènes de ménage et dans la résistance à différentes conditions de stress entraînant ainsi une réponse cellulaire à ces stress par la mobilité ou des changements dans le métabolisme (Battesti et al., 2011; Helmann, 1991; Wösten, 1998). Ainsi, il est fort probable que les bactéries concentrées dans le Liga soient des bactéries plus sensibles aux variations de leur environnement et que ce Liga permettrait leur développement, dans des conditions plus favorables. Plus particulièrement, les conditions de stress dus à la carence en azote et aux variations de température doivent être plus limitées dans le Liga, car les communautés microbiennes qui y sont présentes ont moins de capacité à résister à ces stress.

Ainsi, le Liga semble former une niche écologique privilégiée pour les organismes ayant plus de difficulté à se maintenir dans l'eau de mer. Il pourrait également être un concentrateur d'organismes pathogènes en provenance des eaux fluviales, qui normalement auraient plus de mal à se maintenir en mer. Enfin, le fait de ne pas observer de différence d'abondance pour les gènes impliqués dans les gènes relatifs aux cycles biogéochimiques, moins de résistance au stress, et des gènes de métabolisme secondaire et de virulence plus abondants pourrait indiquer une spécialisation des communautés microbiennes marines au mode de vie agrégé du Liga.

-Conclusions et perspectives -

Conclusions et perspectives

L'écosystème microbien marin est l'indicateur idéal pour étudier l'influence des changements climatiques et de l'anthropisation sur les écosystèmes car sa structure est directement influencée par les variations dans son environnement biotique et abiotique (Sala and Knowlton, 2006; Taylor et al., 2002). Or les changements climatiques récents impliquant l'augmentation de la température de l'air et des océans ainsi que l'augmentation de la concentration du CO₂ atmosphérique perturbent la structure des communautés microbiennes marines, qui sont au début de chaîne trophique, entraînant notamment une augmentation générale de la biomasse phytoplanctonique et zooplanctonique et un décalage temporel dans les blooms saisonniers (Edwards and Richardson, 2004; IPCC 2014; Hays et al., 2005; Schippers, P. et al., 2004; Villate et al., 1997). C'est dans ce contexte que se forment les MPM. Ainsi, les MPM sont plus abondants et plus fréquents depuis ces vingt dernières années (Danovaro et al., 2009). Depuis le début des années 2000, un nouveau MPM se forme dans le sud du Golfe de Gascogne. Il est localement appelé Liga. Comme les autres MPM, les apparitions du Liga sont de plus en plus fréquentes et abondantes, apparaissant à présent tous les ans, de Mars à Mai et de Septembre à Octobre. Pendant notre année de prélèvement, le Liga est même apparu au mois de Décembre, ce qui n'avait encore jamais été observé dans la région.

Afin de comprendre les déviations des communautés microbiennes marines entraînant la formation de Liga, nous avons exploré la diversité spécifique, la structure, et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes dans les trois domaines du vivant dans l'eau de mer et dans le Liga, en relation avec celles des communautés microbiennes de l'Adour. L'approche que nous avons utilisée dans cette étude pour la caractérisation des communautés microbiennes, par des techniques de biologie moléculaire, est novatrice par rapport aux études passées, principalement basées sur des observations de microscopie (cf. revue, § I.2.2.2). De plus, cette étude est la première à s'intéresser aux trois domaines du vivant dans les MPM.

Selon Gilbert et al. (2012), la structure des communautés microbiennes marines dépend des communautés procaryotes et eucaryotes présentes, et des paramètres environnementaux. Ainsi, nous avons étudié la dynamique des communautés microbiennes du sud du Golfe de Gascogne pour les trois domaines du vivant : archées, bactéries et eucaryotes, en relation avec les paramètres physico-chimiques de l'eau et les paramètres climatiques de cette région.

La composition des communautés microbiennes de l'eau de mer et de l'Adour révélées dans cette étude reflète des taxons communément observés dans les rivières tempérées et dans les régions côtières (Crump and Hobbie, 2005; Kirchman, 2002; Massana and Pedrós-Alió, 2008; Not et al., 2012; Richards and Bass, 2005). Nous avons mis en évidence que les communautés eucaryotes du Liga sont dominées par du zooplancton et des cnidaires qui sont des organismes connus pour s'agréger dans les MPM où ils viennent se nourrir de leur proies qui y sont présentes en forte abondance (Bochdansky and Herndl, 1992; Green and Dagg, 1997). En revanche nous avons détecté peu de diatomées, à l'inverse de ce qui est observé dans les MPM (cf. revue §I.2.2.2). Cependant, conformément à certains MPM observés en mer de Tasmanie et le long de la côte Californienne, nous avons identifié une forte abondance de dinoflagellés dans le Liga (Alldredge, 1999; MacKenzie et al., 2002). Les communautés bactériennes du Liga sont dominées par les classes des *Alphaproteobacteria* et plus particulièrement par le clade SAR11, qui est connu pour être abondant dans l'eau de mer (Eiler et al., 2009), et la classe des *Gammaproteobacteria*, qui sont aussi détectées abondants dans les MPM « fraîchement formés » en mer Adriatique (Blažina et al., 2011).

L'étude de la diversité spécifique et de la structure des communautés archées, bactéries et eucaryotes n'a montré aucune différence le long de la colonne d'eau pour les trois domaines du vivant, ce qui avait déjà été observé dans notre région d'étude (Trigueros and Orive, 2001). De même, aucune différence n'a été observée entre les communautés microbiennes des deux stations de prélèvement marines de Biarritz et de Tarnos, ce qui peut s'expliquer par leur proximité. En revanche, la diversité, la composition et la structure des communautés microbiennes sont différentes entre l'eau de mer et l'Adour, entre l'Adour et le Liga, et entre l'eau de mer et le Liga. Ces différences entre l'Adour et l'eau de mer peuvent s'expliquer simplement, par le fait que ces deux milieux sont très différents en termes de

salinité et de concentration en nutriments. Par contre cette différence est plus étonnante entre les communautés du Liga et de l'eau de mer. Comme DeLong et al. (1993), nous n'avons pas pu détecter les archées dans aucun des échantillons de Liga. Il semblerait donc que ces microorganismes ne vivent pas dans les agrégats marins. Les MPM concentrent les eucaryotes de l'eau de mer (Totti et al., 2005), sélectionnant ainsi certaines espèces qui y sont présentes en forte abondance. Le même principe d'accumulation des espèces bactériennes avait été présenté dans Del Negro et al. (2005), bien que Danovaro et al. (2009) aient trouvé une diversité bactérienne différente entre l'eau de mer et les MPM. De plus, les études sur les MPM ont montré qu'ils étaient enrichis en matière organique dissoute et particulaire (Mykkestad, 1995) et qu'ils avaient une structure de nid d'abeille (Turk et al., 2010) pouvant offrir une niche écologique privilégiée pour les microorganismes marins. Ainsi, les MPM et l'eau de mer présentent également des différences de concentration de nutriments pouvant expliquer sa colonisation par des communautés microbiennes différentes de celles trouvées abondantes dans l'eau de mer. Enfin, nos analyses sur la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du Liga ont montré que les organismes qui y étaient agrégés possédaient moins de gènes de résistance au stress, et notamment au stress nutritif, mais plus de gènes de virulence et de métabolisme secondaire, indiquant une spécialisation des communautés microbiennes du Liga.

Dans ce travail, nous avons également pu mettre en évidence une forte influence des variables environnementales sur la structure des communautés microbiennes de l'eau de mer et du Liga, qui différencie la dynamique de ces communautés selon deux saisons principales : une saison Été-Automne (É-A) et une saison Hiver-Printemps (H-P). Ces deux saisons correspondent aux saisons de blooms phytoplanctoniques dans les régions tempérées (Kirchman, 2012), et correspondent également aux saisons d'apparition du Liga. La structure des communautés bactériennes et eucaryotes de l'eau de mer et du Liga pendant la saison É-A est gouvernée principalement par l'augmentation de la température de l'air et de l'eau de mer. Par contre, la structure des communautés bactériennes et eucaryotes de l'eau de mer et du Liga pendant la saison H-P est plutôt dirigée par les apports en éléments nutritifs d'origine continentale abondants liés aux forts débits de l'Adour à cette saison. L'étude de la dynamique de formation et de persistance des MPM, très

étudiée en mer Adriatique, avait mis en évidence que l'apparition des MPM était liée à une anomalie positive de la température et à un apport en éléments nutritifs d'origine continentale provenant d'un estuaire à proximité de la zone de formation des MPM (Cozzi et al., 2004; Danovaro et al., 2009; Volf et al., 2013). Ainsi, les paramètres environnementaux liés à la formation du Liga dans le sud du Golfe de Gascogne sont les mêmes que ceux qui ont été précédemment observés dans la littérature. Alors que les variations d'apports en nutriments et de température interviennent en même temps dans la dynamique de formation des MPM de mer Adriatique, qui apparaît en général une fois dans l'année à la fin du printemps ; dans notre étude une partie de ces facteurs est suffisante pour la formation du Liga, qui apparaît ainsi deux fois dans l'année gouverné par un lot de facteurs environnementaux au printemps et un autre lot en automne. En effet, sur la période d'étude, les débits de l'Adour ont été beaucoup plus faibles en automne, et au printemps le Liga est apparu dans des conditions de températures de l'eau et de l'air peu élevées (tableaux S2 et S3). Selon la classification des MPM de Precali et al. (2005), le Liga observé depuis ses premières apparitions correspond aux premiers stades de maturation du phénomène. Ceci pourrait être expliqué par le fait que dans le sud du Golfe de Gascogne l'ensemble des conditions favorisant l'apparition de MPM n'est pas observé sur la même période. De ce fait, l'évolution du Liga vers des stades de maturation plus avancés tels que les nuages pélagiques voire des stades de vieillissement tels que les agrégats crémeux et muqueux de surface (cf. revue, § I.2.2.2), est probablement limitée à chaque saison (par le manque de nutriments en automne et une température pas assez élevée au printemps dans notre zone d'étude). De plus, les MPM sont très sensibles aux perturbations de leur environnement (Russo et al., 2005). Or la région du sud du Golfe de Gascogne est soumise à une houle importante (Charles et al., 2012) pouvant entraîner la dislocation du Liga et de ce fait perturber sa maturation. Cette hypothèse est renforcée par le fait que la présence de gènes impliqués dans le métabolisme des composés azotés et phosphorés ainsi que des gènes impliqués dans la résistance au stress nutritif sont reliés à la température de l'eau qui est le paramètre structurant des communautés microbiennes du Liga en automne.

En conclusion, l'ensemble de nos résultats nous laisse supposer que la composition, la diversité, la structure, et la dynamique fonctionnelle des communautés

microbiennes du Liga est le résultat d'une sélection et d'une spécialisation des communautés microbiennes marines s'adaptant aux conditions de vie agrégées dans le Liga. Comme les MPM, le Liga se formerait aussi en période post-bloom.

Néanmoins, de nombreux points sont encore à élucider concernant la dynamique des communautés microbiennes impliquées dans la formation de Liga dans le sud du Golfe de Gascogne.

Dans la poursuite directe de notre analyse, il serait intéressant de faire une analyse de réseau de corrélation, sur notre jeu de données actuel, entre la composition des communautés microbiennes du Liga et les paramètres environnementaux recueillis afin de rechercher les paramètres environnementaux gouvernant les populations. De même, il serait intéressant de réaliser une analyse de cooccurrence sur les communautés bactériennes et eucaryotes en même temps, pour tenter de déterminer les relations de symbiose et d'exclusion entre eux.

Les paramètres environnementaux saisonniers sont les facteurs qui influencent le plus les communautés microbiennes impliquées dans la formation de Liga. Cependant, il est probable que d'autres paramètres aient aussi une influence, d'autant plus que nos analyses n'expliquent pas la totalité des variations dans la structure des communautés microbiennes. Ainsi, prolonger ces analyses sur un set d'échantillons sur plusieurs années, avec des prélèvements intensifs pendant les périodes d'apparition du Liga et plus de prélèvements en dehors des périodes d'apparition du Liga permettrait de mieux mettre en évidence les facteurs biotiques et abiotiques conditionnant sa formation. Cela permettrait également de mieux évaluer les taxons microbiens impliqués directement dans la formation et la persistance de Liga. De plus, Artolozaga et al. (2000) ont montré que l'on pouvait recréer des agrégats en mésocosme à partir de prélèvements d'eau de mer prélevée dans le Golfe de Gascogne. Reproduire ses expériences en utilisant des prélèvements d'eau de mer de début de printemps et de début d'automne permettrait d'affiner nos résultats et d'étudier pas à pas la dynamique des communautés microbiennes impliquées dans la formation de Liga. De plus, si les mésocosmes sont réalisés dans différentes conditions, cela permettrait d'étudier l'influence exacte des paramètres environnementaux soupçonnés de jouer un rôle dans la formation de MPM et ainsi de mieux comprendre leur influence sur les communautés microbiennes pouvant conduire à ce phénomène d'agrégation. Nous

pourrions notamment évaluer plus précisément le rôle de chaque taxon comme par exemple celui du clade SAR11, qui est un clade majeur des communautés bactériennes des océans, impliqué dans les cycles biogéochimiques du carbone et du soufre (Sun and Guo, 2011; Tripp et al., 2008), et qui est présent abondamment dans nos agrégats.

Les diatomées ont été peu détectées dans cette étude, alors que les études parallèles en microscopie optique sur les mêmes prélèvements ont montré qu'elles étaient présentes en forte abondance durant notre suivi annuel. Pourtant, il est fort probable que l'on puisse apporter des éléments de compréhension dans le rôle des diatomées dans la formation du Liga, comme il a été montré que les diatomées sont importantes dans les phénomènes de MPM dans le monde entier (Fukao et al., 2009; Najdek et al., 2005). Godhe et al. (2008) ont mis au point des amorces de qPCR ciblant les diatomées dont *Ceratoneis closterium*, diatomée la plus abondante des MPM en mer Adriatique et *Coscinodiscus granii*, diatomée majoritaire dans les MPM de la mer Ariake au sud du Japon (cf. revue, § I.2.2.2). Il serait donc intéressant de compléter notre vision de la diversité eucaryote en testant l'abondance et l'organisation des diatomées par des expériences de PCR en temps réelle et de FISH (Fluorescence In Situ Hybridation). Cela permettrait aussi de confronter directement les résultats de biologie moléculaire et de microscopie sur une même série de prélèvements. Pour aller plus loin, nous pourrions également cibler les dinoflagellés pour comparer si les abondances relatives obtenues en biologie moléculaire et en microscopie optiques sont concordantes et ainsi mieux évaluer les différentes approches passées et futures dans l'étude des MPM. Enfin, nos résultats sur la diversité fonctionnelle ont permis de mettre en évidence des différences d'abondance relative des gènes des communautés de l'eau de mer et du Liga, mais pas d'information quantitative. Ainsi, des analyses de méta-transcriptomiques seraient intéressantes pour évaluer le potentiel fonctionnel des communautés microbiennes du Liga par rapport aux communautés microbiennes de l'eau de mer.

Cette étude réalisée à différents niveaux sur l'ensemble des organismes impliqués dans la formation de Liga au sud du Golfe de Gascogne nous a permis d'éclaircir les liens entre les communautés microbiennes responsables de la formation des phénomènes de type MPM et de mieux comprendre leur dynamique d'organisation

et leur dynamique fonctionnelle. Mise en lien avec les résultats de nos partenaires sur le projet PERMALA-LIGA, nous pourrions ainsi compléter l'image globale sur les mécanismes de formation et de persistance des MPM qui sont des phénomènes de plus en plus fréquents et abondants dans le monde entier.

Références

Les références utilisées uniquement dans les articles n'ont pas été ajoutées à cette liste.

- Achtman, M., Wagner, M., 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol.* 6, 431–440.
- Acinas, S.G., Rodríguez-Valera, F., Pedrós-Alió, C., 1997. Spatial and temporal variation in marine bacterioplankton diversity as shown by RFLP fingerprinting of PCR amplified 16S rDNA. *FEMS Microbiol. Ecol.* 24, 27–40.
- Al-Bahry, S.N., Mahmoud, I.Y., Al-Belushi, K.I.A., Elshafie, A.E., Al-Harthy, A., Bakheit, C.K., 2009. Coastal sewage discharge and its impact on fish with reference to antibiotic resistant enteric bacteria and enteric pathogens as bio-indicators of pollution. *Chemosphere* 77, 1534–1539.
- Allredge, A., 1999. The potential role of particulate diatom exudates in forming nuisances mucilaginous scums. *Ann. Ist. Super. Sanita* 35, 397–400.
- Allredge, A.L., Passow, U., Haddock, H.D., 1998. The characteristics and transparent exopolymer particle (TEP) content of marine snow formed from thecate dinoflagellates. *J. Plankton Res.* 20, 393–406.
- Allredge, A.L., Silver, M.W., 1988. Characteristics, dynamics and significance of marine snow. *Prog. Oceanogr.* 20, 41–82.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines: méthodes en flux continu. Editions Quae.
- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, R.K., 2008. *Permanova+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods*.
- Andreae, M.O., 1990. Ocean-atmosphere interactions in the global biogeochemical sulfur cycle. *Mar. Chem.* 30, 1–29.
- Artolozaga, I., Ayo, B., Latatu, A., Azúa, I., Unanue, M., Iriberry, J., 2000. Spatial distribution of protists in the presence of macroaggregates in a marine system. *FEMS Microbiol. Ecol.* 33, 191–196. x
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., Thingstad, F., 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Estuaries* 50.
- Azam, F., Malfatti, F., 2007. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 782–791. 7
- Baker, G.C., Smith, J.J., Cowan, D.A., 2003. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J. Microbiol. Methods* 55, 541–555.
- Balkis, N., Atabay, H., Türetgen, I., Albayrak, S., Balkis, H., Tüfekçi, V., 2010. Role of single-celled organisms in mucilage formation on the shores of Büyükada Island (the Marmara Sea). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 91, 771–781. 1
- Baquero, F., Martínez, J.-L., Cantón, R., 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19, 260–265.
- Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D.A., Horvath, P., 2007. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315, 1709–1712.
- Battesti, A., Majdalani, N., Gottesman, S., 2011. The RpoS-mediated general stress response in *Escherichia coli**. *Annu. Rev. Microbiol.* 65, 189–213.
- Beltrami, E., Carroll, T.O., 1994. Modeling the role of viral disease in recurrent phytoplankton blooms. *J. Math. Biol.* 32, 857–863.
- Bianchi, T.S., Rolff, C., Widbom, B., Elmgren, R., 2002. Phytoplankton pigments in Baltic Sea seston and sediments: seasonal variability, fluxes, and transformations. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 55, 369–383.

- Blackwood, C.B., Hudleston, D., Zak, D.R., Buyer, J.S., 2007. Interpreting ecological diversity indices applied to terminal restriction fragment length polymorphism data: insights from simulated microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5276–5283.
- Blažina, M., Najdek, M., Fuks, D., Smodlaka, N., 2011. Microbial communities in northern Adriatic mucilaginous aggregates: insight into the early phase of aggregate formation. *Hydrobiologia* 658, 213–220.
- Bochdansky, A.B., Herndl, G.J., 1992a. Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. III. *Mar Ecol Prog Ser* 87, 135–146.
- Bochdansky, A.B., Herndl, G.J., 1992b. Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. III. *Mar Ecol Prog Ser* 87, 135–146.
- Bongiorni, L., Armeni, M., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2007. Viruses, prokaryotes and biochemical composition of organic matter in different types of mucilage aggregates. *Aquat. Microb. Ecol.* 49, 15–23.
- Borja, A. [editor], Collins, M. [editor], 2004. *Oceanography and marine environment of the Basque Country*. Elsevier Oceanogr. Ser. 70.
- Bougis, P., 1974. *Ecologie du plancton marin: Le phytoplancton I*. Masson et scie.
- Brands, S.J., 1989. *Systema Naturae 2000. The Taxonomicon*.
- Bray, J.R., Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecol. Monogr.* 27, 325–349.
- Brock, T.D., 1966. *Principles of microbial ecology*.
- Brown, M.V., Lauro, F.M., DeMaere, M.Z., Muir, L., Wilkins, D., Thomas, T., Riddle, M.J., Fuhrman, J.A., Andrews-Pfannkoch, C., Hoffman, J.M., others, 2012. Global biogeography of SAR11 marine bacteria. *Mol. Syst. Biol.* 8, 595.
- Buesseler, K.O., Boyd, P.W., 2009. Shedding light on processes that control particle export and flux attenuation in the twilight zone of the open ocean. *Limnol. Oceanogr.* 54, 1210.
- Calbet, A., Landry, M.R., 2004. Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. *Limnol. Oceanogr.* 49, 51–57.
- Cermeno, P., Marañón, E., Pérez, V., Serret, P., Fernández, E., Castro, C.G., 2006. Phytoplankton size structure and primary production in a highly dynamic coastal ecosystem (Ría de Vigo, NW-Spain): seasonal and short-time scale variability. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 67, 251–266.
- Charles, E., Idier, D., Thiébot, J., Le Cozannet, G., Pedreros, R., Arduin, F., Planton, S., 2012. Present wave climate in the Bay of Biscay: Spatiotemporal variability and trends from 1958 to 2001. *J. Clim.* 25, 2020–2039.
- Clarke, L.A., Rebelo, C.S., Goncalves, J., Boavida, M.G., Jordan, P., 2001. PCR amplification introduces errors into mononucleotide and dinucleotide repeat sequences. *Mol. Pathol.* 54, 351.
- Clarke, KR (1993). *Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure*. Australian *Journal of Ecology* 18: 117-143.
- Cooke, M.D., 1976. Antibiotic resistance among coliform and fecal coliform bacteria isolated from sewage, seawater, and marine shellfish. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9, 879–884.
- Cozzi, S., Ivančić, I., Catalano, G., Djakovac, T., Degobbis, D., 2004. Dynamics of the oceanographic properties during mucilage appearance in the Northern Adriatic Sea: analysis of the 1997 event in comparison to earlier events. *J. Mar. Syst.* 50, 223–241.
- Crump, B.C., Hobbie, J.E., 2005. Synchrony and seasonality in bacterioplankton communities of two temperate rivers. *Limnol. Oceanogr.* 50, 1718–1729.
- Culman, S.W., Bukowski, R., Gauch, H.G., Cadillo-Quiroz, H., Buckley, D.H., 2009. T-REX: software for the processing and analysis of T-RFLP data. *BMC Bioinformatics* 10, 171.
- Daillox, D., Morichon, D., Abadie, S., Anglet, F., Pasaia, E., l'Adour, A., 2006. Application d un système vidéo au suivi de la dynamique côtière d un panache turbide de surface: Cas du panache de l Adour. *IXèmes Journées Natl. Génie Civ.-Génie Côtier Brest Fr*.
- Danovaro, R., Fonda Umani, S., Pusceddu, A., 2009. Climate Change and the Potential Spreading of Marine Mucilage and Microbial Pathogens in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE* 4, e7006.
- Das, S., Lyla, P.S., Khan, S.A., 2006. Marine microbial diversity and ecology: importance and future perspectives. *Curr. Sci.* 90, 1325–1335.
- De Caceres, M., Legendre, P. (2009). *Associations between species and groups of sites: indices and*

- statistical inference. *Ecology*, URL <http://sites.google.com/site/miqueldecaceres/>
- Degobbi, D., Fonda-Umani, S., Franco, P., Malej, A., Precali, R., Smodlaka, N., 1995. Changes in the northern Adriatic ecosystem and the hypertrophic appearance of gelatinous aggregates. *Sci. Total Environ.* 165, 43–58.
- De La Rocha, C.L., Nowald, N., Passow, U., 2008. Interactions between diatom aggregates, minerals, particulate organic carbon, and dissolved organic matter: Further implications for the ballast hypothesis. *Glob. Biogeochem. Cycles* 22.
- Del Negro, P., Crevatin, E., Larato, C., Ferrari, C., Totti, C., Pompei, M., Giani, M., Berto, D., Fonda Umani, S., 2005. Mucilage microcosms. *Sci. Total Environ.* 353, 258–269.
- DeLong, E.F., Franks, D.G., Alldredge, A.L., 1993. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs. free-living marine bacterial assemblages. *Limnol. Oceanogr.* 924–934.
- Demple, B., 1991. Regulation of bacterial oxidative stress genes. *Annu. Rev. Genet.* 25, 315–337.
- Ducklow, H.W., Steinberg, D.K., Buesseler, K.O., 2001. Upper ocean carbon export and the biological pump. *Oceanogr.-Wash. DC-Oceanogr. Soc.-* 14, 50–58.
- Edwards, M., Richardson, A.J., 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430, 881–884.
- Eiler, A., Hayakawa, D.H., Church, M.J., Karl, D.M., Rappé, M.S., 2009. Dynamics of the SAR11 bacterioplankton lineage in relation to environmental conditions in the oligotrophic North Pacific subtropical gyre. *Environ. Microbiol.* 11, 2291–2300.
- Falkowski, P., Kiefer, D.A., 1985. Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass. *J. Plankton Res.* 7, 715–731.
- Falkowski, P., Scholes, R.J., Boyle, E., Canadell, J., Canfield, D., Elser, J., Gruber, N., Hibbard, K., Höglberg, P., Linder, S., 2000. The global carbon cycle: a test of our knowledge of earth as a system. *science* 290, 291–296.
- Faria, J.C.; Jelihovschi, E.G and Allaman, I.B (2015). Conventional Tukey Test. UESC, Ilheus, Brasil.
- Fenchel, T., 2008. The microbial loop—25 years later. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 366, 99–103.
- Flander-Putrlle, V., Malej, A., 2008. The evolution and phytoplankton composition of mucilaginous aggregates in the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae* 7, 752–761.
- Frontier, S., Pichod-Viale, D., Leprêtre, A., Davoult, D., Luczak, C., 2008. Écosystèmes-4ème édition-Structure, Fonctionnement, Évolution: Structure, Fonctionnement, Évolution. Dunod.
- Fuhrman, J.A., 2009. Microbial community structure and its functional implications. *Nature* 459, 193–199.
- Fuhrman, J.A., 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399, 541–548.
- Fukao, T., Kimoto, K., Yamatogi, T., Yamamoto, K., Yoshida, Y., Kotani, Y., 2009. Marine mucilage in Ariake Sound, Japan, is composed of transparent exopolymer particles produced by the diatom *Coscinodiscus granii*. *Fish. Sci.* 75, 1007–1014.
- Galgani, F., Burgeot, T., Bocquene, G., Vincent, F., Leaute, J.P., Labastie, J., Forest, A., Guichet, R., 1995. Distribution and abundance of debris on the continental shelf of the Bay of Biscay and in Seine Bay. *Mar. Pollut. Bull.* 30, 58–62.
- Garcia-Martinez, J., Rodriguez-Valera, F., 2000. Microdiversity of uncultured marine prokaryotes: the SAR11 cluster and the marine Archaea of Group I. *Mol. Ecol.* 9, 935–948.
- Gärdes, A., Iversen, M.H., Grossart, H.-P., Passow, U., Ullrich, M.S., 2010. Diatom-associated bacteria are required for aggregation of *Thalassiosira weissflogii*. *ISME J.* 5, 436–445.
- Gilbert, J.A., Steele, J.A., Caporaso, J.G., Steinbrück, L., Reeder, J., Temperton, B., Huse, S., McHardy, A.C., Knight, R., Joint, I., Somerfield, P., Fuhrman, J.A., Field, D., 2012. Defining seasonal marine microbial community dynamics. *ISME J.* 6, 298–308.
- Giovannoni, S.J., Stingl, U., 2005. Molecular diversity and ecology of microbial plankton. *Nature* 437, 343–348.
- Godhe, A., Asplund, M.E., Harnstrom, K., Saravanan, V., Tyagi, A., Karunasagar, I., 2008. Quantification of Diatom and Dinoflagellate Biomasses in Coastal Marine Seawater Samples by Real-Time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 7174–7182.
- Godrijan, D.M., 2013. Seasonal phytoplankton dynamics in the coastal waters of the north-eastern Adriatic Sea. *J. Sea Res.* 77, 32–44.
- Granda, A.P., Anadón Álvarez, R., 2008. The annual cycle of nanoflagellates in the Central Cantabrian Sea (Bay of Biscay). *J. Mar. Syst.* 72, 298–308.

- Green, E.P., Dagg, M.J., 1997. Mesozooplankton associations with medium to large marine snow aggregates in the northern Gulf of Mexico. *J. Plankton Res.* 19, 435–447.
- Grilli, F., Paschini, E., Precali, R., Russo, A., Supić, N., 2005. Circulation and horizontal fluxes in the northern Adriatic Sea in the period June 1999–July 2002. Part I: Geostrophic circulation and current measurement. *Sci. Total Environ.* 353, 57–67.
- Hagström, A., Pommier, T., Rohwer, F., Simu, K., Stolte, W., Svensson, D., Zweifel, U.L., 2002. Use of 16S ribosomal DNA for delineation of marine bacterioplankton species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 3628–3633.
- Hahn, M.W., 2006. The microbial diversity of inland waters. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 256–261.
- Hahn, M.W., Höfle, M.G., 2001. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 35, 113–121.
- Hays, G.C., Richardson, A.J., Robinson, C., 2005. Climate change and marine plankton. *Trends Ecol. Evol.* 20, 337–344.
- Helmann, J.D., 1991. Alternative sigma factors and the regulation of flagellar gene expression. *Mol. Microbiol.* 5, 2875–2882.
- Hernández-León, S., Ikeda, T., 2005. A global assessment of mesozooplankton respiration in the ocean. *J. Plankton Res.* 27, 153–158.
- He, Z., Van Nostrand, J.D., Zhou, J., 2012. Applications of functional gene microarrays for profiling microbial communities. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 460–466.
- Hibbing, M.E., Fuqua, C., Parsek, M.R., Peterson, S.B., 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 15–25.
- Hill, P.S., 1992. Reconciling aggregation theory with observed vertical fluxes following phytoplankton blooms. *J. Geophys. Res. Oceans* 1978–2012 97, 2295–2308.
- Hoppenrath, M., 2004. A revised checklist of planktonic diatoms and dinoflagellates from Helgoland (North Sea, German Bight). *Helgol. Mar. Res.* 58, 243–251.
- Horner, R.A., 2002. A taxonomic guide to some common marine phytoplankton. Biopress Bristol.
- Hulburt, E.M., 1962. PHYTOPLANKTON IN THE SOUTHWESTERN SARGASSO SEA AND NORTH EQUATORIAL CURRENT, FEBRUARY 1961. *Limnol. Oceanogr.* 7, 307–315.
- Huse, S.M., Dethlefsen, L., Huber, J.A., Welch, D.M., Relman, D.A., Sogin, M.L., 2008. Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genet* 4, e1000255.
- IPCC, 2014. Fifth Assessment Report - Synthesis Report [WWW Document]. URL <https://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/> (accessed 9.8.15).
- Jackson, G.A., 2001. Effect of coagulation on a model planktonic food web. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 48, 95–123.
- Jurgens, K., Massana, R., 2008. Protistan grazing on marine bacterioplankton. *Microb. Ecol. Oceans* 2nd Edn Wiley N. Y. 383441.
- Kjørboe, T., 2003. Marine snow microbial communities: scaling of abundances with aggregate size. *Aquat. Microb. Ecol.* 33, 67–75.
- Kirchman, D.L., 2012. Processes in Microbial Ecology. OUP Oxford.
- Kirchman, D.L., 2002. The ecology of Cytophaga–Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39, 91–100.
- Knowles, C.J., 1976. Microorganisms and cyanide. *Bacteriol. Rev.* 40, 652.
- Kokelj, F., Trevisan, G., Stinco, G., Piscanc, A.M., 1994. Skin damage caused by mucilaginous aggregates in the Adriatic sea. *Contact Dermatitis* 31, 257–259.
- Könneke, M., Bernhard, A.E., José, R., Walker, C.B., Waterbury, J.B., Stahl, D.A., 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* 437, 543–546.
- Kovač, N., Mozetič, P., Trichet, J., Défarge, C., 2005. Phytoplankton composition and organic matter organization of mucous aggregates by means of light and cryo-scanning electron microscopy. *Mar. Biol.* 147, 261–271.
- Kozich, J.J., Westcott, S.L., Baxter, N.T., Highlander, S.K., Schloss, P.D., 2013. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 5112–5120.
- Kunin, V., Engelbrektson, A., Ochman, H., Hugenholtz, P., 2010. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates. *Environ. Microbiol.* 12, 118–123.
- Langenheder, S., Jürgens, K., 2001. Regulation of bacterial biomass and community structure by metazoan and protozoan predation. *Limnol. Oceanogr.* 46, 121–134.
- Li, X., Wang, X., Yang, H., Gao, X., Cui, Z., 2008. [Application of gyrB in the identification of closely related bacteria—a review]. *Wei Sheng Wu Xue Bao* 48, 701–706.

- Logan, B.E., Passow, U., Alldredge, A.L., Grossartt, H.P., Simont, M., 1995. Rapid formation and sedimentation of large aggregates is predictable from coagulation rates (half-lives) of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 42, 203–214.
- Lorrain, A., Savoye, N., Chauvaud, L., Paulet, Y.-M., Naulet, N., 2003. Decarbonation and preservation method for the analysis of organic C and N contents and stable isotope ratios of low-carbonated suspended particulate material. *Anal. Chim. Acta* 491, 125–133.
- Lovejoy, C., Massana, R., Pedrós-Alió, C., 2006. Diversity and Distribution of Marine Microbial Eukaryotes in the Arctic Ocean and Adjacent Seas. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 3085–3095.
- MacIntyre, H.L., Kana, T.M., Anning, T., Geider, R.J., 2002. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *J. Phycol.* 38, 17–38.
- MacKenzie, L., Sims, I., Beuzenberg, V., Gillespie, P., 2002. Mass accumulation of mucilage caused by dinoflagellate polysaccharide exudates in Tasman Bay, New Zealand. *Harmful Algae* 1, 69–83.
- Marchi, M., Boutin, M., Gazengel, K., Rispe, C., Gauthier, J.-P., Guillerm-Erckelboudt, A.-Y., Lebreton, L., Barret, M., Daval, S., Sarniguet, A., 2013. Genomic analysis of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Pf29Arp with evidence of T3SS and T6SS gene expression on plant roots. *Environ. Microbiol. Rep.* 5, 393–403.
- Margalef, R., 1997. Turbulence and marine life. *Sci. Mar.* 61, 109–123.
- Margalef, R., 1958. *Temporal succession and spatial heterogeneity in phytoplankton*. University of California press.
- Marquis, E., Niquil, N., Delmas, D., Hartmann, H.J., Bonnet, D., Carlotti, F., Herbland, A., Labry, C., Sautour, B., Laborde, P., others, 2007. Inverse analysis of the planktonic food web dynamics related to phytoplankton bloom development on the continental shelf of the Bay of Biscay, French coast. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 73, 223–235.
- Martin, J.H., Knauer, G.A., Karl, D.M., Broenkow, W.W., 1987. VERTEX: carbon cycling in the northeast Pacific. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 34, 267–285.
- Martin, P., Lampitt, R.S., Jane Perry, M., Sanders, R., Lee, C., D'Asaro, E., 2011. Export and mesopelagic particle flux during a North Atlantic spring diatom bloom. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 58, 338–349.
- Massana, R., Pedrós-Alió, C., 2008. Unveiling new microbial eukaryotes in the surface ocean. *Curr. Opin. Microbiol.* 11, 213–218.
- Mayr, E., 1942. *Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist*. Harvard University Press.
- McMurdie P.J. and Holmes S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE* 8(4):e61217.
- Mobashery, S., Eduardo Jr, F.A., 1999. Bacterial antibiotic resistance. *eLS*.
- Moeseneder, M.M., Arrieta, J.M., Muyzer, G., Winter, C., Herndl, G.J., 1999. Optimization of terminal-restriction fragment length polymorphism analysis for complex marine bacterioplankton communities and comparison with denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3518–3525.
- Moniz, M.B., Kaczmarska, I., 2009. Barcoding diatoms: Is there a good marker? *Mol. Ecol. Resour.* 9, 65–74.
- Moon-van der Staay, S.Y., De Wachter, R., Vaultot, D., 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature* 409, 607–610.
- Morel, F.M.M., Price, N.M., 2003. The biogeochemical cycles of trace metals in the oceans. *Science* 300, 944–947.
- Moyer, C.L., Tiedje, J.M., Dobbs, F.C., Karl, D.M., 1996. A computer-simulated restriction fragment length polymorphism analysis of bacterial small-subunit rRNA genes: efficacy of selected tetrameric restriction enzymes for studies of microbial diversity in nature. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2501–2507.
- Myklestad, S.M., 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Sci. Total Environ.* 165, 155–164.

- Najdek, M., Blazina, M., Djakovac, T., Kraus, R., 2005. The role of the diatom *Cylindrotheca closterium* in a mucilage event in the northern Adriatic Sea: coupling with high salinity water intrusions. *J. Plankton Res.* 27, 851–862.
- Noss, R.F., 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conserv. Biol.* 355–364.
- Not, F., Siano, R., Kooistra, W.H.C.F., Simon, N., Vaultot, D., Probert, I., 2012. Chapter One - Diversity and Ecology of Eukaryotic Marine Phytoplankton, in: Gwenaël Piganeau (Ed.), *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp. 1–53.
- Oksanen J, F. and others, 2015. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.2-1.
<http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Orive, E., Franco, J., de Madariaga, I., Revilla, M., 2004. Chapter 15 - Bacterioplankton and phytoplankton communities, in: Collins, Á.B. and M. (Ed.), *Elsevier Oceanography Series*. Elsevier, pp. 367–393.
- Parada, V., Sintes, E., van Aken, H.M., Weinbauer, M.G., Herndl, G.J., 2007. Viral abundance, decay, and diversity in the meso- and bathypelagic waters of the North Atlantic. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 4429–4438.
- Passow, U., Alldredge, A.L., 1994. Distribution, size and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 113, 185–198.
- Passow, U., Carlson, C.A., 2012. The biological pump in a high CO₂ world. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 470, 249–271.
- Paytan, A., McLaughlin, K., 2007. The oceanic phosphorus cycle. *Chem. Rev.* 107, 563–576.
- Precali, R., Giani, M., Marini, M., Grilli, F., Ferrari, C.R., Pečar, O., Paschini, E., 2005. Mucilaginous aggregates in the northern Adriatic in the period 1999–2002: Typology and distribution. *Sci. Total Environ.* 353, 10–23.
- Price, P.B., Sowers, T., 2004. Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, maintenance, and survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 4631–4636.
- Prusty, R., Grisafi, P., Fink, G.R., 2004. The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 4153–4157.
- R Development Core Team (2012) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Rhodes, M.W., Kator, H., 1988. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in estuarine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 2902–2907.
- Richards, T.A., Bass, D., 2005. Molecular screening of free-living microbial eukaryotes: diversity and distribution using a meta-analysis. *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 240–252.
- Riemann, L., Steward, G.F., Azam, F., 2000. Dynamics of Bacterial Community Composition and Activity during a Mesocosm Diatom Bloom. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2282–2282.
- Rinaldi, A., Vollenweider, R.A., Montanari, G., Ferrari, C.R., Ghetti, A., 1995. Mucilages in Italian seas: the Adriatic and Tyrrhenian seas, 1988–1991. *Sci. Total Environ.* 165, 165–183.
- Ritchie, ME, Phipson, B, Wu, D, Hu, Y, Law, CW, Shi, W, and Smyth, GK (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research* 43(7), e47.
- Russo, A., Maccaferri, S., Djakovac, T., Precali, R., Degobbi, D., Deserti, M., Paschini, E., Lyons, D.M., 2005. Meteorological and oceanographic conditions in the northern Adriatic Sea during the period June 1999–July 2002: Influence on the mucilage phenomenon. *Sci. Total Environ.* 353, 24–38.
- Sala, E., Knowlton, N., 2006. Global marine biodiversity trends. *Annu Rev. Env. Resour.* 31, 93–122.
- Schiaparelli, S., Castellano, M., Povero, P., Sartoni, G., Cattaneo-Vietti, R., 2007. A benthic mucilage event in North-Western Mediterranean Sea and its possible relationships with the summer 2003 European heatwave: short term effects on littoral rocky assemblages. *Mar. Ecol.* 28, 341–353.
- Schippers, P., Lüring, M.F.L.L.W., Scheffer, M., 2004. Increase of atmospheric CO₂ promotes phytoplankton productivity. *Ecol. Lett.* 7, 446–451.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., others, 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541.

- Schlüter, M.H., Kraberg, A., Wiltshire, K.H., 2012. Long-term changes in the seasonality of selected diatoms related to grazers and environmental conditions. *J. Sea Res.* 67, 91–97.
- Sexton, A.C., Howlett, B.J., 2000. Characterisation of a cyanide hydratase gene in the phytopathogenic fungus *Leptosphaeria maculans*. *Mol. Gen. Genet.* MGG 263, 463–470.
- Shannon, C.E., 1948. *A Mathematical Theory of Communication*. *Bell Syst. Tech. J.* 27, 379–423.
- Sjöberg, F., Nowrouzian, F., Rangel, I., Hannoun, C., Moore, E., Adlerberth, I., Wold, A.E., 2013. Comparison between terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and quantitative culture for analysis of infants' gut microbiota. *J. Microbiol. Methods* 94, 37–46.
- Smayda, T.J., 1997. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 1137–1153.
- Smetacek, V.S., 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.* 84, 239–251.
- Stachowitsch, M., Fanuko, N., Richter, M., 1990. Mucus aggregates in the Adriatic Sea: an overview of stages and occurrences. *Mar. Ecol.* 11, 327–350.
- Staley, J.T., Konopka, A., 1985. Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annu. Rev. Microbiol.* 39, 321–346.
- Steehan Nielsen, E., 1975. *Marine photosynthesis with special emphasis on the ecological aspects*. Elsevier Oceanogr. Ser. 13.
- Storz, G., Tartaglia, L.A., Farr, S.B., Ames, B.N., 1990. Bacterial defenses against oxidative stress. *Trends Genet.* 6, 363–368.
- Strom, S.L., 2008. *Microbial Ecology of Ocean Biogeochemistry: A Community Perspective*. *Science* 320, 1043–1045.
- Sun, J., Guo, S., 2011. Dinoflagellate heterotrophy. *Shengtai Xuebao Acta Ecol. Sin.* 31, 6270–6286.
- Suspérregui et al 2012 Nicolas Susperregui, François Gallet, Philippe Gaudin, Laurent Soulier and Pascale Fossecave. 2012. Etude du phénomène « LIGA » sur le littoral basco-landais : Janvier 2011- Juin 2012.
- Suttle, C.A., 2007. Marine viruses—major players in the global ecosystem. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 801–812.
- Svetličić, V., Žutić, V., Radić, T.M., Pletikapić, G., Zimmermann, A.H., Urbani, R., 2011. Polymer Networks Produced by Marine Diatoms in the Northern Adriatic Sea. *Mar. Drugs* 9, 666–679.
- Takahashi, T., Sutherland, S.C., Sweeney, C., Poisson, A., Metzl, N., Tilbrook, B., Bates, N., Wanninkhof, R., Feely, R.A., Sabine, C., others, 2002. Global sea–air CO₂ flux based on climatological surface ocean pCO₂, and seasonal biological and temperature effects. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 49, 1601–1622.
- Taylor, A.H., Allen, J.I., Clark, P.A., 2002. Extraction of a weak climatic signal by an ecosystem. *Nature* 416, 629–632.
- Taylor, A.H., Joint, I., 1990. A steady-state analysis of the “microbial loop” in stratified systems. *Mar Ecol Prog Ser* 59.
- Thorpe, S.A., 1996. *Oceanography: An Illustrated Guide*. CRC Press.
- Tiselius, P., Kuylenstierna, B., 1996. Growth and decline of a diatom spring bloom phytoplankton species composition, formation of marine snow and the role of heterotrophic dinoflagellates. *J. Plankton Res.* 18, 133–155.
- Totti, C., Cangini, M., Ferrari, C., Kraus, R., Pompei, M., Puggnetti, A., Romagnoli, T., Vanucci, S., Socal, G., 2005. Phytoplankton size-distribution and community structure in relation to mucilage occurrence in the northern Adriatic Sea. *Sci. Total Environ.* 353, 204–217.
- Trigueros, J.M., Orive, E., 2001. Seasonal variations of diatoms and dinoflagellates in a shallow, temperate estuary, with emphasis on neritic assemblages. *Hydrobiologia* 444, 119–133.
- Tripp, H.J., Kitner, J.B., Schwalbach, M.S., Dacey, J.W., Wilhelm, L.J., Giovannoni, S.J., 2008. SAR11 marine bacteria require exogenous reduced sulphur for growth. *Nature* 452, 741–744.
- Tüfekçi, V., Balkıs, N., Polat-Beken, Ç., Ediger, D., Mantıkçı, M., 2010. Phytoplankton composition and environmental conditions of a mucilage event in the Sea of Marmara. *Turk. J. Biol.* 34.
- Tu, Q., Yu, H., He, Z., Deng, Y., Wu, L., Van Nostrand, J.D., Zhou, A., Voordeckers, J., Lee, Y.-J., Qin, Y., Hemme, C.L., Shi, Z., Xue, K., Yuan, T., Wang, A., Zhou, J., 2014. GeoChip 4: a functional gene-array-based high-throughput environmental technology for microbial community analysis. *Mol. Ecol. Resour.* n/a–n/a.
- Turk, V., Hagström, Å, Kovač, N., Faganeli, J., 2010. Composition and function of mucilage macroaggregates in the northern Adriatic. *Aquat. Microb. Ecol.* 61, 279–289.

- Turner, J.T., 2015. Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological pump. *Prog. Oceanogr.* 130, 205–248.
- Valencia, V., Franco, J., Borja, A., Fontán, A., 2004. Hydrography of the southeastern Bay of Biscay. *Oceanogr. Mar. Environ. Basque Ctry. Elsevier Oceanogr. Ser.* 70, 159–194.
- Valiela, I., 2013. *Marine Ecological Processes*. Springer Science & Business Media.
- van Aken, H.M., 2002. Surface currents in the Bay of Biscay as observed with drifters between 1995 and 1999. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 49, 1071–1086.
- Varela, M., 1996. Phytoplankton ecology in the Bay of Biscay. *Sci. Mar.* 60, 45–53.
- Venter, J.C., Remington, K., Heidelberg, J.F., Halpern, A.L., Rusch, D., Eisen, J.A., Wu, D., Paulsen, I., Nelson, K.E., Nelson, W., others, 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *science* 304, 66–74.
- Villate, F., Moral, M., Valencia, V., 1997. Mesozooplankton community indicates climate changes in a shelf area of the inner Bay of Biscay throughout 1988 to 1990. *J. Plankton Res.* 19, 1617–1636.
- Volf, G., Atanasova, N., Kompare, B., Ožanić, N., 2013. Modeling nutrient loads to the northern Adriatic. *J. Hydrol.* 504, 182–193.
- Weinert, K.P., 1995. *Multivariate analysis of variance*.
- Whitman, W.B., Coleman, D.C., Wiebe, W.J., 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 6578–6583.
- Whittaker, R.H., 1962. Classification of natural communities. *Bot. Rev.* 28, 1–239.
- Wickham H., *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer New York, 2009.
- Wintzingerode, F. v, Göbel, U.B., Stackebrandt, E., 1997. Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol. Rev.* 21, 213–229.
- Wösten, M., 1998. Eubacterial sigma-factors. *FEMS Microbiol. Rev.* 22, 127–150.
- Wright, T.D., Vergin, K.L., Boyd, P.W., Giovannoni, S.J., 1997. A novel delta-subdivision proteobacterial lineage from the lower ocean surface layer. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 1441–1448.
- Wuchter, C., Abbas, B., Coolen, M.J., Herfort, L., van Bleijswijk, J., Timmers, P., Strous, M., Teira, E., Herndl, G.J., Middelburg, J.J., others, 2006. Archaeal nitrification in the ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 12317–12322.
- Wu, L., Liu, X., Schadt, C.W., Zhou, J., 2006. Microarray-based analysis of subnanogram quantities of microbial community DNAs by using whole-community genome amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 4931–4941.
- Zhang, S., Jiang, Y., Chen, C.-S., Spurgin, J., Schwehr, K.A., Quigg, A., Chin, W.-C., Santschi, P.H., 2012. Aggregation, dissolution, and stability of quantum dots in marine environments: Importance of extracellular polymeric substances. *Environ. Sci. Technol.* 46, 8764–8772.

Annexes

Tableau S1 : Liste des prélèvements utilisés dans cette étude. Dans la colonne « Présence de Liga », « / » indique que l'on a pas constaté si le Liga était présent ou pas, « + » indique que le Liga était présent en mer aux deux stations de prélèvement, et « - » indique que le Liga était absent.

Dates de prélèvement	Type de prélèvement	Présence de Liga
31-mai-13	Adour/Intensif	/
04-juin-13	Mer/Intensif	+
06-juin-13	Mer/Intensif	+
10-juin-13	Adour/Mensuel	/
12-juin-13	Mer/Mensuel	+
14-juin-13	Mer/Intensif	+
15-juil-13	Adour/Mensuel	/
16-juil-13	Mer/Mensuel	-
12-août-13	Adour/Mensuel	/
14-août-13	Mer/Mensuel	-
11-sept-13	Adour/Intensif et Mensuel	/
13-sept-13	Mer/Mensuel	+
20-sept-13	Mer/Intensif	-
23-sept-13	Mer/Intensif	+
25-sept-13	Mer/Intensif	+
27-sept-13	Mer/Intensif	+
30-sept-13	Mer/Intensif	+
02-oct-13	Mer/Intensif	+
10-oct-13	Mer/Intensif	+
11-oct-13	Adour/Mensuel	/
14-oct-13	Mer/Intensif	+
26-nov-13	Adour/Mensuel	/
27-nov-13	Biarritz/Mensuel	-
28-nov-13	Tarnos/Mensuel	-
09-déc-13	Adour/Mensuel	/
10-déc-13	Mer/Mensuel	+
06-mars-14	Adour/Intensif	/
07-mars-14	Mer/Intensif	-
12-mars-14	Mer/Mensuel	+
14-mars-14	Mer/Intensif	+
17-mars-14	Mer/Intensif	+
03-avr-14	Mer/Intensif	+
04-avr-14	Adour/Mensuel	/
22-avr-14	Mer/Mensuel	+
05-mai-14	Mer/Intensif	+
07-mai-14	Mer/Intensif	+
16-mai-14	Adour/Mensuel	/
19-mai-14	Mer/Mensuel	+
18-juin-14	Adour/Mensuel	/
19-juin-14	Mer/Mensuel	-

Tableau S2 : Variables climatiques utilisées dans cette étude. Les données de coefficient de marées proviennent de des services marée infos (www.maree.info.fr), les débit de l'Adour proviennent de la banque Hydro (www.hydro.eaufrance.fr), les données de houle et de couverture nuageuse proviennent de Windguru (www.windguru.cz.fr), et les autres données proviennent de Météo France et de Météostats. Les données manquantes sont indiquées par « NA ».

Date	Site	Coefficients de marée (centièmes)	Débits de l'Adour ($m^3 \cdot s^{-1}$)	Houle (m)	Température de l'air ($^{\circ}C$)	Durée d'ensoleillement (h)	Force du vent ($km \cdot h^{-1}$)	Direction du vent (degrés)	Température de l'eau de mer en surface ($^{\circ}C$)	Précipitations ($mm \cdot j^{-1}$)	Pression atmosphérique (hPa)	Couverture nuageuse ($\% \cdot j^{-1}$)	Irradiance ($W \cdot m^{-2}$)
04/06/13	Mer	59	1105,2	0,77	18,9	14,4	25,9	350	16,02	0	1017,3	0	911
06/06/13	Mer	69	906,3	1,27	28,4	9,3	46,1	270	16,44	10,1	1014,6	41	NA
12/06/13	Mer	73	960,6	1	30,3	14,5	43,9	270	17,29	0	1018,7	2	933
14/06/13	Mer	63	959,1	1,49	22,8	10,3	29,2	270	16,94	0	1018	15	931
16/07/13	Mer	55	332,8	0,47	25,1	4,9	31,3	290	23,66	0,4	1020,6	48	NA
14/08/13	Mer	59	167,8	0,81	23,9	13,1	25,9	340	22,69	0	1021,7	29	617
13/09/13	Mer	50	122,65	0,76	22,4	5,7	22,7	300	20,7	0,0001	1024,1	46	NA
20/09/13	Mer	105	139,2	1,28	21,8	1,3	37,1	270	NA	1,4	1021,9	69	503
23/09/13	Mer	88	105,15	1,09	30,6	11,4	24,5	150	NA	0	1016,6	12	725
25/09/13	Mer	61	100,21	0,93	28,7	6,3	25,2	60	20,7	0	1010,4	36	683
27/09/13	Mer	35	96,81	0,52	30,5	3,4	22,7	100	20,88	0	1007,6	72	639
30/09/13	Mer	44	98,74	0,63	25,8	5,85	40,7	280	20,64	0	1005,9	25	706
02/10/13	Mer	69	94,72	1,39	30,2	6,7	18	70	20,95	0,0001	1008,5	45	678
11/10/13	Mer	62	115,16	0,84	14,4	3,8	16,6	40	18,13	0,2	1017,9	34	383
14/10/13	Mer	57	99,19	0,63	21,3	6,9	29,2	270	18,32	0	1018,5	46	533
27/11/13	Mer	39	362,9	0,98	7,4	5,3	14	270	13,74	0	1031,2	3	328
10/12/13	Mer	58	196,9	0,61	13,6	8,2	19,8	70	11,84	0,6	1029,4	0	353
07/03/14	Mer	64	1125	2,12	15,1	10,8	50	290	11,57	0	1024,5	3	689
12/03/14	Mer	50	539	1,69	19	11	41	50	12,34	0	1025,4	33	689
14/03/14	Mer	72	413,5	1,22	17	11,1	50	340	12,35	0,2	1027,3	0	692
17/03/14	Mer	93	350	0,75	21,1	11	44	250	12,61	0,2	1022	14	739
03/04/14	Mer	92	844,6	0,86	12,4	0	87	290	12,85	1	1003,2	98	53
22/04/14	Mer	56	401,2	1,15	16,4	4,6	62	290	NA	0,2	1013,9	65	745
05/05/14	Mer	54	520,34	0,65	27,9	12,8	34,2	250	15,18	0,2	1012	32	886
07/05/14	Mer	37	476,56	1,17	19	7,3	26,3	330	16,06	0	1021,3	46	956
19/05/14	Mer	83	276,7	0,59	24,3	7,4	38,9	310	16,12	18,4	1001,7	63	753
19/06/14	Mer	73	228,7	0,71	26,8	14,5	31,5	360	NA	0	1017,6	60	906

Tableau S3: Variables environnementales utilisées dans cette étude. Toutes ces variables ont été mesurées dans des laboratoires extérieurs. Les concentrations en MES ont été déterminées par gravimétrie. Le carbone organique particulaire (POC) et l'azote organique particulaire (PON) ont été mesurés selon la technique de Lorrain et al. (2003) à l'aide d'un Flash Elemental Analyzer Series 1112 (ThermoFinnigan). Les concentrations de sels nutritifs ont été mesurées à l'aide d'un AutoAnalyzer selon la technique de Aminot and Kérouel, (2007).

Date de prélèvement	Site de prélèvement	Profondeur	MES (mg/l)	NOP ($\mu\text{g/l}$)	COP ($\mu\text{g/l}$)	Si(OH) ₄ ($\mu\text{mol/l}$)	PO ₄ ³⁻ ($\mu\text{mol/l}$)	TEP ($\mu\text{g/l}$)	EPS ($\mu\text{g/l}$)
04/06/13	Biarritz	PMCa	6,88	75	161	2,32	0,06	47,253	32,447
06/06/13	Biarritz	PMCa	3,29	62	191	1,14	0,13	144,819	40,559
12/06/13	Biarritz	PMCa	2,29	33	175	1,35	0,03	105,889	36,402
14/06/13	Biarritz	PMCa	2,47	43	112	1,27	0,06	74,205	45,756
16/07/13	Biarritz	PMCa	7,94	67	390	2,32	0,09	27,883	70,105
14/08/13	Biarritz	PMCa	1,95	16	132	0,56	0,02	41,907	36,950
13/09/13	Biarritz	PMCa	1,66	16	114	1,36	0,01	27,173	53,933
20/09/13	Biarritz	PMCa	1,76	26	190	0,76	0,01	25,795	37,892
23/09/13	Biarritz	PMCa	1,75	9	91	0,83	0,01	21,660	30,909
25/09/13	Biarritz	PMCa	2,92	9	142	0,83	0,01	14,153	31,857
27/09/13	Biarritz	PMCa	2,19	12	91		0,01	18,419	35,153
30/09/13	Biarritz	PMCa	2,24	12	99	0,84	0,01	27,918	34,772
02/10/13	Biarritz	PMCa	2,86	10	102	0,98	0,02	39,858	34,743
11/10/13	Biarritz	PMCa	4,96	29	226	1,29	0,06	55,206	35,672
14/10/13	Biarritz	PMCa	4,21	13	106	0,51	0,04	40,976	32,506
27/11/13	Biarritz	PMCa	2,17	8	122	1,31	0,02	87,654	35,124
10/12/13	Biarritz	PMCa	2,43	16	133	4,30	0,01	53,865	29,565
07/03/14	Biarritz	PMCa	5,50	34	291	10,67	0,30	77,931	19,706
12/03/14	Biarritz	PMCa	3,19	27	172	4,70	0,32	109,186	32,685
14/03/14	Biarritz	PMCa	0,19	24	150	4,02	0,22	NA	53,496
17/03/14	Biarritz	PMCa	5,36	30	204	1,06	0,04	61,968	25,959
03/04/14	Biarritz	PMCa	3,96	49	305	7,44	0,09	98,942	22,914
22/04/14	Biarritz	PMCa	2,20	46	350	3,98	0,01	29,297	25,298
05/05/14	Biarritz	PMCa	2,08	23	196	1,59	0,01	32,445	35,730
07/05/14	Biarritz	PMCa	3,27	45	287	2,39	0,01	40,603	24,515
19/05/14	Biarritz	PMCa	4,15	22	404	3,68	0,03	41,143	43,496
19/06/14	Biarritz	PMCa	0,61	29	207	0,76	0,01	65,135	51,598
12/06/13	Tarnos	PMCa	1,88	39	111	1,06	0,08	32,482	36,184
16/07/13	Tarnos	PMCa	4,48	67	277	1,21	0,06	24,565	69,353
14/08/13	Tarnos	PMCa	1,98	21	157	0,60	0,10	59,521	38,802
13/09/13	Tarnos	PMCa	1,60	14	118	1,03	0,02	40,417	40,800
11/10/13	Tarnos	PMCa	4,45	26	153	1,52	0,09	54,610	35,545
28/11/13	Tarnos	PMCa	NA	NA	NA	2,34	0,05	60,142	35,346
10/12/13	Tarnos	PMCa	1,79	13	94	4,40	0,08	56,007	38,029
07/03/14	Tarnos	PMCa	3,80	25	197	5,51	0,30	269,916	37,015
22/04/14	Tarnos	PMCa	4,17	48	356	2,06	0,05	339,170	33,080
19/05/14	Tarnos	PMCa	2,44	34	250	7,31	0,01	73,982	35,532
19/06/14	Tarnos	PMCa	1,98	25	198	0,97	0,01	58,075	32,229

Tableau S4 : Détails de l'analyse en SIMPER-test sur les différents compartiments. Les trois espèces responsables du maximum de similarité de chaque compartiment sont indiquées pour chaque compartiment.

		Surface						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Eau de mer	Bactéries	16,36%	Candidatus puniceispirillum	5,75%	36,31%	Synechococcus sp.	27,38%	
			Candidatus actinomarina	5,60%		Synechococcus sp.	10,17%	
			non-classée du clade SAR116_clade	5,63%		Candidatus actinomarina	7,64%	
	Eucaryotes	20,87%	Peridiniphycidae sp.	20,09%	33,61%	Arthropoda sp.	22,29%	
			Arthropoda sp.	12,19%		Spirotrichea sp.	7,47%	
			Urochordata sp.	9,54%		Arthropoda sp.	5,95%	
			PMCa					
			H-P			É-A		
			Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée
	Bactéries	18,39%	bactérie non-classée du clade SAR116_clade	7,91%	37,66%	Synechococcus sp.	32,35%	
			Candidatus puniceispirillum	7,39%		Synechococcus sp.	12,71%	
			Candidatus actinomarina	6,86%		Candidatus puniceispirillum	5,89%	
Eucaryotes	25,56%	Peridiniphycidae sp.	25,38%	33,67%	Cnidaria sp.	13,20%		
		Arthropoda sp.	24,42%		Gymnodiniphycidae sp.	9,16%		
		Arthropoda sp.	5,56%		Arthropoda sp.	9,12%		
		Fond						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Bactéries	20,00%	bactérie non-classée du clade SAR116_clade	7,41%	32,58%	Synechococcus sp.	26,43%		
		Candidatus puniceispirillum	7,35%		Synechococcus sp.	10,73%		
		Arthropoda sp.	18,34%		Candidatus actinomarina	9,22%		
Eucaryotes	20,73%	Arthropoda sp.	7,11%	29,85%	Cnidaria sp.	13,07%		
		Peridiniphycidae sp.	6,66%		Gymnodiniphycidae sp.	10,28%		
					Arthropoda sp.	8,06%		
		Agrégé						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Bactéries	26,42%	Psychrobacter sp.	22,99%	24,65%	Synechococcus sp.	17,73%		
		Psychrobacter sp.	14,74%		Synechococcus sp.	13,42%		
		Erythrobacter sp.	13,82%		Erythrobacter sp.	11,21%		
Eucaryotes	35,02%	Arthropoda sp.	41,47%	31,33%	Arthropoda sp.	50,70%		
		Arthropoda sp.	12,08%		Arthropoda sp.	8,65%		
		Arthropoda sp.	11,11%		Arthropoda sp.	6,48%		
		Attaché						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Bactéries	36,34	Psychrobacter sp.	25,41%	38,95%	Synechococcus sp.	25,91%		
		Erythrobacter sp.	17,88%		Synechococcus sp.	20,93%		
		Psychrobacter sp.	14,88%		Psychrobacter sp.	10,12%		
Eucaryotes	19,17%	Urochordata sp.	44,13%	37,78%	Urochordata sp.	26,23%		
		Arthropoda sp.	16,19%		Cnidaria sp.	22,87%		
		Peridiniphycidae sp.	7,91%		Urochordata sp.	20,71%		
		Planctonique						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Bactéries	20,07%	Erythrobacter sp.	20,47%	39,09%	Synechococcus sp.	34,63%		
		Synechococcus sp.	10,76%		Synechococcus sp.	15,14%		
		Synechococcus sp.	9,85%		Candidatus actinomarina	6,28%		
Eucaryotes	20,67%	Arthropoda sp.	25,91%	23,83%	Urochordata sp.	22,37%		
		Peridiniphycidae sp.	20,25%		Arthropoda sp.	19,37%		
		Urochordata sp.	18,49%		Urochordata sp.	18,55%		
		Adour						
		H-P			É-A			
		Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	Similarité	Espèces représentatives	Similarité expliquée	
Bactéries	29,25%	Pseudarcicella sp.	20,26%	45,18%	Pseudarcicella sp.	24,41%		
		Limnohabitans sp.	7,24%		Limnohabitans sp.	8,17%		
		Sphingorhabdus sp.	5,12%		Alcanivorax sp.	6,72%		
Eucaryotes	29,34%	non classé de l'ordre des Peronosporomycetes	4,07%	23,88%	Spirotrichea sp.	41,02%		
		Spirotrichea sp.	2,70%		Spirotrichea sp.	6,79%		
					Arthropoda	2,99%		

