NNT/NL : 0000AIXM0000

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à l'Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella
En cotutelle avec Aix-Marseille Université
Le 25-Juillet 2024 par

Aicha MEHIROU ZOUGGAR

Étude de la biodiversité et du potentiel biotechnologique de la population micro-organismes extrêmophiles de la zone humide d'Ain Skhouna Chott-Ech-chergui

Discipline1 France
Sciences de l'environnement

Discipline 2 Algérie
Science de la nature et de la vie

Spécialité 1 France
Écologie

Spécialité 2 Algérie
Hydrobiologie marine et continentale

École doctorale France
ED 251 - sciences de l'environnement

Laboratoire/Partenaires de recherche
Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie marine et continentale (IMBE).

Laboratoire d'Aquaculture et bioremédiation (AQUABIOR).

Composition du jury

Hafida HASSAINE Professeur Faculté SNV - Université Tlemcen Algérie	Rapporteuse
Benjamin MISSON MCF-Maitre de Conférences - Institut Méditerranéen d'Océanologie Université de Toulon	Rapporteur
Sonia MEDIENE Professeur- Université Oran 1 Ahmed BEN BELLA	Examinatrice
Sidi Mohammed El Amine ABI AYAD Professeur- Université Oran 1 Ahmed BEN BELLA	Président du jury
Anne CHENUIL HDR-Aix Marseille Université (IMBE)	Directrice de thèse
Sid-Ahmed Chawki LAMARA Professeur -Université Oran1 Ahmed BEN BELLA	Directeur de thèse
Pascal MIRLEAU HDR- Aix Marseille Université (IMBE)	Invité

Affidavit

Je soussigné, Aicha MEHIROU ZOUGGAR, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Anne CHENUIL et Sid-Ahmed Chawki LAMARA, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Marseille, France, le 25 juillet 2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

Liste de publications et participation aux conférences

1) Liste des publications réalisées dans le cadre du projet de thèse

MEHIROU ZOUGGAR, A., Mirleau, P., Chenuil, A., Denis, F., Caruso, A., Abi Ayad, S.M.E.A., Lamara, S.A.C. Extreme and Heterogeneous Conditions of the Desert Wetland Chott Ech Chergui (Algeria) Allow Isolating Halophilic, Alkalophilic and Thermophilic Bacteria. *Wetlands* **43**, 108 (2023). https://doi.org/10.1007/s13157-023-01757-5

Mehirou Zouggar, **A.**, Mirleau, P., Dubut, V., Meglecz, E., Abi Ayad, S.M.E.A., Lamara, S.A.C., Chenuil, A. Metabarcoding of prokaryotes and eukaryote community in a mosaic of extreme environments of a desert wetland: importance of connectivity and local environmental conditions on taxonomic composition. (En préparation).

2) Participation aux congrès et conférences au cours de la période de thèse

Mehirou Zouggar, A., Lamara, S.A.C., Chenuil, A., Mirleau, P., Nil, S., Abi Ayad, S.M.E.A. Estimation spatio-temporelle de l'abondance de bacteries halophiles, alcaliphiles et thermophiles de la zone humide Chott Ech Chergui. Symposium international sur les procaryotes extrémophiles de la biodiversité à la biotechnologie (Université de Tlemcen Algérie).

Mehirou Zouggar, A., Dubut, V., Lamara, S.A.C., Abi Ayad, S.M.E.A., Meglecz, E., Mirleau, P., Chenuil, A. Mesure de la biodiversité microbienne de la zone humide Chott Ech Chergui par métabarcodage des gènes ADNr 16s. Congrès de l'ED 251. 14 et 15 avril 2021 (présentation orale/poster).

Résumé projet Tassili

Classée zone humide par la convention RAMSAR, Chott Ech Chergui (Ain Skhouna) représente l'une des plus grandes zones humides d'Afrique du Nord à la jonction des influences méditerranéenne et désertique. Constituée d'une juxtaposition d'écosystèmes, elle présente une forte diversité de caractéristiques environnementales qui en fait une zone d'un grand intérêt écologique mais aussi économique. Dans un contexte de développement de l'agriculture et de mise en place d'une politique touristique, le projet de thèse vise à utiliser les nouveaux outils biotechnologiques pour dresser un inventaire des communautés microbiennes d'écosystèmes caractéristiques de cette zone. Par approche moléculaire, accompagnée du suivi mensuel des paramètres des milieux ciblé, permettra d'identifier les interactions entre les acteurs de ces communautés en relation avec les paramètres physicochimiques des milieux ciblés, afin d'identifier les interactions entre les acteurs de ces communautés en relation avec les conditions environnementales. L'analyse statistique des données obtenues éclairera la compréhension des risques de déséquilibre associés à d'éventuelles modifications environnementales liées à l'exploitation du site et au contexte international de changement globaux.

Mots clé : Zone humide, communautés microbienne, paramètres physicochimiques, approche moléculaire.

Résumé de la thèse

Introduction : Les zones humides, riches en biodiversité, revêtent une importance particulière, surtout dans les régions arides. Chott Ech Chergui, l'une des plus vastes zones humides du désert nord-africain située en Algérie, se démarque par ses conditions extrêmes de température et de salinité. Notre étude a caractérisé de façon approfondie les conditions physico-chimiques exceptionnelles de cette région peu étudiée ainsi que la biodiversité, basée sur le métabarcodage **Méthode :** Nous avons initié un suivi sur sept sites, englobant des lacs salés, des lacs d'eau douce et des sources chaudes, à travers une campagne d'échantillonnage mensuelle étalée sur une année. Nos objectifs incluaient la caractérisation physico-chimique et microbiologique, avec un accent sur l'isolement et la purification de souches extrêmophiles. Simultanément, nous cherchions à décrire la diversité taxonomique au moyen du métabarcodage. Ce suivi avait également pour but de comprendre et de comparer l'influence de la connectivité et des conditions environnementales sur les communautés biologiques dans quatre types d'habitats distincts de la zone humide, à savoir les sources chaudes, les zones hypersalines, les zones salines et les zones de confluence entre ces milieux contrastés. Tout au long de cette période d'un an, nous avons procédé à la caractérisation mensuelle d'échantillons d'eau et de sédiment provenant de six sites, en utilisant le gène de la cytochrome c oxydase sous-unité I (COI) pour les communautés eucaryotes et le gène ribosomal 16S pour les communautés bactériennes. **Résultats :** Quatre sites sous l'influence de la source thermale ont montré peu de variation physico-chimique temporelle. Trois sites ont manifesté une variation plus marquée, étroitement liée à l'élévation du niveau d'aridité de la fin du printemps à l'automne, se révélant ainsi un indicateur significatif de la composition chimique de l'eau. Nous avons identifié des bactéries extrêmophiles. Parmi 320 isolats bactériens testés pour la thermo-tolérance, l'acido-tolérance et alcalino-tolérance, 39, affiliés aux Firmicutes et aux Protéobactéries, ont été maintenus avec succès et ont fait l'objet d'une caractérisation physiologique, biochimique et moléculaire. La thermotolérance a été enregistrée jusqu'à 100 °C pour un isolat d'eau affilié à *Geobacillus stearothermophilus*. L'halotolérance a été enregistrée jusqu'à 30% de NaCl (p/v) pour des

isolats de sédiments affiliés à *Salinicola zeshunii, Chromohalobacter beijerinckii* et *Virgibacillus halodenitrificans.* La tolérance à l'acidité et à l'alcalinité a été enregistrées pour une plage de pH de 5 à 11 pour plusieurs isolats de sol et d'eau affiliés aux *genres Exiguobacterium, Bacillus, Salinicola* et *Chromohalobacter*. La diversité alpha était plus élevée dans les échantillons de sédiment que dans les échantillons d'eau pour les deux marqueurs, et chaque compartiment abritait des communautés distinctes. La composition taxonomique des procaryotes et des eucaryotes variait d'un site à l'autre et selon les dates d'échantillonnage. La température et le pH de l'eau (pour le marqueur 16S) et également la salinité (pour le marqueur COI) représentaient le meilleur groupe de variables prédictrices de la composition de la communauté. Cependant, et de manière intéressante, nos données remettent en question l'hypothèse paradigmatique de Baas Becking selon laquelle, pour les micro-organismes, "tout est partout, mais l'environnement sélectionne", car les sites abritant des communautés les plus similaires en composition d'espèces n'appartenaient pas au même habitat abiotique mais avaient tendance à être géographiquement proches et hydrologiquement les plus connectés, suggérant que la dispersion entre certains sites peut être limitée ("tout" ne peut pas arriver "n'importe où"). Un autre résultat inattendu est que, bien que le métabarcodage COI soit rarement utilisé pour étudier les communautés des zones humides (ou des communautés planctoniques), le COI s'est avéré aussi bon, voire meilleur, que le 16S pour refléter l'influence du site, du mois et de l'environnement abiotique. Pour huit des 25 organismes détectés et identifiés au niveau de l'espèce par le métabarcodage COI, leur découverte dans cette zone humide désertique représente une extension de leurs gammes de latitude et/ou de longitude connues selon la base de données biogéographique GBIF. Cela, ainsi que le fait que les courbes d'accumulation de la diversité n'atteignent pas un plateau (que ce soit pour le marqueur 16S ou le COI), démontre que les études taxonomiques et écologiques de cet environnement apporteraient de nouvelles descriptions d'espèces à la science, et pas uniquement chez les procaryotes. **Conclusion :** Ces résultats soulignent la nécessité de poursuivre la recherche dans la zone humide afin de mieux comprendre et exploiter les organismes uniques qui prospèrent dans ces environnements humides extrêmes.

ملخص

المقدمة: تتسم الأراضي الرطبة الغنية بالتنوع البيولوجي بأهمية خاصة، لا سيما في المناطق الجافة. شط الشرقي، تعد واحدة من أكبر الأراضي الرطبة في صحراء شمال أفريقيا الواقعة في الجزائر، تبرز بسبب الظروف القاسية من درجة الحرارة والملوحة. وقد وصفت دراستنا بدقة الظروف الفيزيائية والكيميائية الاستثنائية في هذه المنطقة التي لم تتم دراستها بشكل جيد من قبل وكذلك التنوع البيولوجي، استنادا إلى طريقة الترميز. لقد بدأنا عملية تتبع في سبعة مواقع، بما في ذلك البحيرات المالحة وبحيرات المياه العذبة والينابيع الساخنة، من خلال حملة أخذ العينات الشهرية التي تمتد على مدار عام. وشملت أهدافنا تحاليل فيزيائيةٍ كيميائية وميكرو بيولوجية، مع التركيز على عزل وتنقية السلالات القادرة على تحمل الظروف القاسية. وفي الوقت نفسه، سعينا إلى وصف التنوع التصنيفي باستخدام الترميز. وكان الهدف من الرصد أيضا هو فهم ومقارنة تأثير الترابط والظروف البيئية على المجتمعات البيولوجية في أربعة أنواع من الأماكن التي تتميز بها المنطقة، وهي الينابيع الساخنة والمناطق الرطبة والمناطق المالحة ومناطق الالتقاء بين هذه البيئات المتناقضة. وطوال هذه الفترة من السنة، قمنا بتوصيف شهري لعينات من الماء والتربة من ستة مواقع، وذلك باستخدام جين السيتوكروم سي أوكسيديز الوحدة الفرعية (COI) للمجتمعات حقيقية النواة والجين الريبوسومي S16 للمجتمعات البكتيرية. النتائج: أظهرت أربعة مواقع تحت تأثير مصدر الحرارة القليل من التباين الفيزيائي والكيميائي الزمني. وأظهرت ثلاثة مواقع تغيرا أكبر، يرتبط ارتباطا وثيقا بارتفاع مستوى الجفاف من أواخر الربيع إلى الخريف، مما يدل على وجود مؤشر كبير على التركيب الكيميائي للمياه. من بين 320 عزل بكتيري تم اختبارها لقدرة التحمل الحراري، الملوحة والتسامح القلوي، تم الحفاظ على 39، المرتبطة ب Firmicutes وProteobacter، وتم توصيفها الفسيولوجي،الكيميائي الحيوي والجزيئي. تم تسجيل التحمل الحراري إلى 100 درجة مئوية لعزل المياه التابعة لل *Geobacillus stearothermophilus*. تم تسجيل القدرة على الملوحة مع ما يصل إلى 30 % من كلوريد الصوديو لعزل الرواسب المرتبطة ب *Salinicola zeshunii*، *Chromohalobacter beijerinckii*، *Virgibacillus halodenitrificans*. تم تسجيل تحمل القلوية لنطاق درجة 11 للعديد من عزل التربة والمياه المرتبطة بالأنواع *genera Exiguobacterium*، *Bacillus*، *Salinicola*،*Chromohalobacter*. وكان تنوع ألفا أعلى في عينات الرواسب مقارنة بعينات المياه لكلا الجنات، وكانت كل نوع من العينات يضم مجتمعات منفصلة. وتختلف التركيبة التصنيفية لنظائر النواة الأولية والنواة الحقيقية من موقع إلى آخر ووفقا لتواريخ أخذ العينات. كانت درجة حرارة الماء ودرجة الحموضة (للجينات S16) وكذلك الملوحة (للعلامة COI) أفضل مجموعة من المتغيرات التنبؤية لتكوين المجتمع. ومع ذلك، ومن المثير للاهتمام، أن بياناتنا تتحدى فرضية بآس بيجكينع النموذجية التي تقول إنه بالنسبة للكائنات الحية الدقيقة "كل شيء في كل مكان، لكن البيئة تختار" ، لأن المواقع التي تضم أكثر المجتمعات المتشابهة في تكوين الأنواع لا تنتمي إلى نفس البيئة الغير الحيوية ولكنها تميل إلى أن تكون قريبة جغرافيا ومترابطة هيدرولوجيا ، مما يشير إلى أن التشتت بين بعض المواقع يمكن أن يكون محدودا ("كل شيء" لا يمكن أن يحدث "في أي مكان"). نتيجة أخرى غير متوقعة هي أنه على الرغم من أن ترميز COI نادرا ما يستخدم لدراسة مجتمعات الأراضي الرطبة (أو مجتمعات العوالق)، إلا أن COI أثبت أنه جيد أو أفضل من لتعكس تأثير الموقع والشهر والبيئة للأحيائية. وبالنسبة لثمانية من أصل 25 كائنا تم اكتشافها وتحديدها على مستوى الأنواع عن طريق الترميز

ميتابركودنغ لعلم المحيطات، فإن اكتشافها في هذه المنطقة الرطبة الصحراوية يمثل امتدادا لنطاقات خطوط العرض و/أو خطوط الطول المعروفة في قاعدة البيانات الجغرافية الحيوية جبئف. هذا، بالإضافة إلى حقيقة أن منحنيات تراكم التنوع لا تصل إلى هضبة (سواء بالنسبة للعلامة S16 أو COI)، مما يدل على أن الدراسات التصنيفية والإيكولوجية لهذه البيئة ستجلب أوصافا جديدة لأنواع الكائنات الحية إلى العلم، وليس فقط في بدائيات النوى. الاستنتاجات: تسلط هذه النتائج الضوء على الحاجة إلى إجراء المزيد من البحوث في الأراضي الرطبة من أجل فهم واستغلال الكائنات الحية الفريدة التي تزدهر في هذه البيئات الرطبة الشديدة بشكل أفضل

Abstract

Chott Ech Chergui, one of the largest wetlands in the North African desert, stands out for its extreme temperature and salinity conditions. We monitored seven sites, including hot springs, saltwater, and freshwater lakes, over a year-long sampling campaign. Our objectives included physico-chemical and microbiological characterization, with a focus on isolating and purifying extremophile strains. The study also aimed to describe taxonomic diversity via metabarcoding. The goal was to understand and compare the influence of connectivity and environmental conditions on biological communities in four distinct habitats of the wetland. The study involved monthly characterization of water and sediment samples from six sites, using the cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene for eukaryotes and the 16S ribosomal gene for bacteria. Four sites under the influence of the thermal spring showed little temporal physico-chemical variation. Three sites exhibited more pronounced variation, closely linked to aridity from late spring to autumn, serving as a significant indicator of water chemical composition. Among 320 bacterial isolates tested for thermo-halo-alkaline-tolerance, 39, affiliated with Firmicutes and Proteobacteria, were successfully maintained and subjected to physiological, biochemical, and molecular characterization. Thermotolerance was recorded up to 100°C for an isolate affiliated with *Geobacillus stearothermophilus*. Halotolerance was recorded up to 30% NaCl for isolates affiliated with *Salinicola zeshunii, Chromohalobacter beijerinckii*, and *Virgibacillus halodenitrificans.* Alkalinity tolerance was recorded up to pH 11 for several isolates affiliated with the genera *Exiguobacterium, Bacillus, Salinicola*, and *Chromohalobacter.* Alpha diversity was higher in water samples than sediment for both markers, with each compartment harboring distinct communities. Taxonomic composition of prokaryotes and eukaryotes varied by site and sampling dates. Water temperature and pH (for the 16S marker) as well as salinity (for the COI marker) represented the best set of predictive variables for community composition. However, interestingly, our data challenge Baas Becking's paradigmatic hypothesis that "everything is everywhere, but the environment selects," as sites with the most similar species composition did not share the same abiotic habitat but tended to be geographically close

and hydrologically most connected, suggesting that dispersion between certain sites may be limited ("everything" cannot just arrive "anywhere"). Another unexpected result is that, although COI metabarcoding is rarely used to study wetland communities, it proved to be as good, if not better, than 16S in reflecting the influence of site, month, and abiotic environment. For eight of the 25 organisms detected and identified at the species level by COI metabarcoding, their discovery in this desert wetland extends their known latitude and/or longitude ranges according to the GBIF biogeographic database. Additionally, the fact that diversity accumulation curves did not reach a plateau demonstrates that taxonomic and ecological studies of this environment would provide new species descriptions to science, not only among prokaryotes. These results underscore the need for further research to better understand and exploit the unique organisms thriving in these extreme wetland environments.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers les institutions et partenaires qui ont rendu la réalisation de cette thèse possible. Ce travail de recherche, réalisé dans le cadre d'une cotutelle entre ***l'Université Oran 1 Ahmed Ben Bella et l'Université Aix-Marseille****, a bénéficié du soutien financier apporté par un contrat de partenariat du* ***programme Hubert Curien (PHC) Tassili****, en collaboration avec le* ***ministère de l'Éducation Supérieure (Algérie)*** *et* ***l'Institut Français (Oran, Algérie).*** *Je tiens à adresser mes remerciements particuliers* ***à l'école doctorale ED-251*** *à* ***Mme. Catherine FERNANDEZ M. Jean Christophe POGGIALE*** *et* ***Mme Isabelle HAMMAD*** *pour l'accueil et leur implication essentielle dans ce projet. Par ailleurs, je suis reconnaissante envers le* ***laboratoire IMBE et l'équipe OEB (France)*** *et le* ***laboratoire AQUABIOR (Algérie)*** *pour leur soutien et leur collaboration précieuse dans le cadre de cette thèse. Enfin, je souhaite exprimer ma gratitude envers* ***la Société de l'Eau et de l'Assainissement d'Oran*** *pour leur accompagnement, De même, je remercie* ***les Gardes Forestiers de la commune de Saida, en Algérie****, pour leur aide précieuse lors des expéditions. La contribution de l'ensemble des organismes a été déterminante dans la réalisation de cette thèse, et je leur en suis infiniment reconnaissante."*

J'ai eu de la chance d'avoir une équipe d'encadrement avec des atouts complémentaires. Mes premières pensées personnelles s'adressent tout d'abord à ***M.ABI AYAD Sidi Mohamed El Amine,*** *le directeur du laboratoire d'aquaculture et bioremédiation de l'université ORAN1Ahmed BEN BELLA, et le professeur de mon parcours universitaire. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre confiance en moi. Vous m'avez eu comme étudiante en troisième année universitaire et m'avez fait découvrir le monde de la biotechnologie aquatique avec votre équipe de professeurs et de jeunes doctorants. Vous m'avez donné l'envie de rester dans la recherche. Grâce à vous, j'ai été formée dans les meilleurs conditions et avec les machines, produits et équipements innovants. C'est grâce à vous que je suis devenue plus responsable et autonome. C'est vous qui m'avez donné l'envie d'aller au bout de mes rêves de chercheur.*

Merci pour votre disponibilité à toute heure, votre confiance sans faille et votre immense gentillesse.

J'adresse mes sincères remercîments à mes encadrants de thèse pour la confiance qu'ils m'ont accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral et pour m'avoir accompagné tout au long de cette thèse

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, ***Mme. Anne CHENUIL****, pour sa confiance et son soutien tout au long de cette expérience académique. Avant ce projet, nous ne nous connaissions pas, et je suis fière d'avoir eu l'opportunité de croiser son chemin. Je lui suis reconnaissante pour sa réactivité remarquable, ses idées stimulantes et les opportunités qu'elle m'a offertes de découvrir le monde de l'écologie marine et continentale, ainsi que de rencontrer des chercheurs exceptionnels. Son soutien précieux et son engagement sans faille ont été des éléments essentiels dans la réussite de ce projet. Malgré les défis rencontrés, elle a toujours fait preuve d'une compréhension et d'un soutien inestimables. Sa confiance en mes capacités, même dans les moments où je devais constamment prouver mes compétences, a été un moteur essentiel de ma réussite. Travailler avec elle a été une expérience enrichissante qui m'a permis de grandir à la fois académiquement et personnellement. Je lui suis profondément reconnaissante pour son soutien constant et sa confiance en moi tout au long de ce parcours.*

J'exprime ma gratitude pour mon directeur de thèse en ***Algérie M. LAMARA Sid Ahmed Chawki****. Pour sa responsabilité et son soutien, encouragement, et son dévouement sans faille tout au long de ce voyage académique. Sa vision, son expertise et sa patience ont été des piliers essentiels dans la réalisation de cette thèse. Son écoute attentive, sa serviabilité et son enthousiasme constant ont été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Je suis reconnaissante de son mentorat exceptionnel et de son engagement envers mon succès académique. Je suis honorée d'avoir eu l'opportunité de travailler à ses côtés et d'avoir bénéficié de son soutien indéfectible.*

Je souhaite tout particulièrement remercier ***le service commun IMBE d'endoume*** *et particulièrement «* ***Mme. Cécile Chemin »*** *et «* ***M. Vincent DUBUT »*** *pour leur aide compétente, leur grande responsabilité, leurs multiples conseils et pour les nombreuses heures qu'ils ont consacrées à me former, tester et élaborer des protocoles adaptés à nos échantillons extrêmes. Leur regard critique a été d'une grande valeur pour structurer ce travail. Enfin, j'ai été profondément touchée par leurs qualités humaines d'écoute et de*

compréhension ; ils ont été de véritables piliers pour moi au laboratoire, en particulier pendant les moments difficiles de la pandémie de Covid.

*Je voudrais exprimer toute ma gratitude à « **M. MIRLEAU Pascal** », pour m'avoir guidé dans mon travail avec rigueur et patience. Vous avez toujours réussi à encourager mes initiatives et répondre à mes doutes, merci pour la disponibilité, l'enthousiasme et la confiance que vous m'avez témoigné. Merci pour votre contribution exceptionnelle à la réalisation de cette recherche et à la construction des articles. Je suis reconnaissante de sa confiance, de son dévouement et de sa collaboration sans faille. Je suis honorée d'avoir pu bénéficier de son expertise et de son mentorat.*

*Je remercie particulièrement « **Françoise DENIS** » et « **Aurore CARUSO** » d'avoir contribuer à la création de ce projet de thèse et pour leur confiance.*

*Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance envers les membres de mon jury et particulièrement à mes rapporteurs « **Pr. HASSAINE Hafida** » et « **Pr. MISSON Benjamin** » et mon examinatrice « **Pr. MEDIENE Sonia** » pour leur volonté d'évaluer ma thèse. Bien que je n'aie pas encore reçu leurs rapports et leurs expertises, je suis reconnaissante pour leur engagement initial dans le processus d'évaluation. Leur disponibilité à consacrer du temps à examiner mon travail et à fournir des retours est très appréciée. Je suis impatiente de recevoir leurs commentaires et de bénéficier de leur expertise pour améliorer ma thèse. Leur contribution future sera sans aucun doute précieuse pour le développement et la qualité de mon travail académique. Encore une fois, je tiens à les remercier chaleureusement pour leur soutien.*

*Je souhaite exprimer ma sincère reconnaissance envers le comité de thèse, notamment « **Mme. Patricia BONIN** », pour son accompagnement constant, ses encouragements et son soutien tout au long de la période de ma thèse. Sa présence bienveillante a été une source de motivation tout au long de ce parcours académique*

*Je n'aurais pas pu réussir sans l'aide du doctorant « **Rabahi Mohammed** ». Je ne pourrai jamais assez-vous remercier pour m'avoir accompagnée pendant les 12 mois d'échantillonnage dans le désert, même à 2h du matin et dans des conditions très difficiles, entre orages, tempêtes, vents de sable, froids et canicules atteignant 55°C. Vous avez*

toujours été là, et vous avez été un élément essentiel dans mon parcours. Votre soutien indéfectible a été d'une importance capitale, et je vous en suis profondément reconnaissante.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance envers mes collègues et amis, qui ont joué un rôle essentiel dans mon parcours académique et personnel. Particulièrement, ***« MELIANI Meriem » et « NIL Soumia »****, depuis mon début en tant qu'étudiante jusqu'à notre collaboration en tant que collègues et amis proches. Elles ont été une source constante d'encouragement, de soutien et de motivation. Leur présence bienveillante et leur soutien indéfectible ont été d'un grand réconfort pendant les moments de doute et de difficulté. Leur amitié et leur soutien inconditionnel m'ont donné la force et la détermination nécessaires pour persévérer dans mes efforts, même lorsque les obstacles semblaient insurmontables. Leur empathie et leur soutien émotionnel ont été particulièrement précieux lors des moments de joie et de tristesse, notamment lors de l'obtention de mon concours après une longue attente de trois ans. Leur présence à mes côtés pendant des années de recherches, de fatigue, d'échecs et d'exploits, leurs larmes de joie et de tristesse partagées ont renforcé notre lien et ont été une source de réconfort inestimable. Je suis profondément reconnaissante pour leur amitié, leur soutien et leur camaraderie qui ont enrichi mon expérience universitaire et ont été une véritable famille pour moi. Mes plus sincères remerciements vont à eux, ainsi qu'à mes collègues d'Endoume, plus précisément «* ***VILLSEN Kurt****,* ***BRASCHI Julie et De PAO MENDONCA Kassandra »****. Chaque personne compte énormément pour moi. Leur présence dans ma vie a été une véritable force, surtout dans les moments les plus difficiles. Pendant une période où j'ai dû habiter dans la station marine d'endoume sans aucun contact pendant la pandémie du covid-19, leur soutien et leur amitié ont été un phare dans la tempête. Leur compagnie, leur empathie et leur soutien ont transformé ces moments de solitude en une expérience de solidarité et de camaraderie. Leur gentillesse et leur présence ont illuminé même les jours les plus sombres. Je leur suis infiniment reconnaissante pour leur amitié précieuse et leur soutien constant. Leur impact sur ma vie et leur soutien inconditionnel ont été une bénédiction dont je suis profondément reconnaissante.*

Je tiens à exprimer ma gratitude infinie envers ***mes chers parents****,* ***mes deux frères et ma sœur*** *pour leur amour, leur soutien indéfectible et leurs sacrifices inestimables tout au long de mon parcours académique. Leur encouragement constant, leurs conseils avisés et leur dévouement sans faille ont été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Leur*

soutien émotionnel et financier m'ont permis de poursuivre mes études avec détermination et confiance. Je suis profondément reconnaissante pour tout ce qu'ils ont fait pour moi et pour leur amour inconditionnel qui m'a guidée à travers les hauts et les bas de ce voyage.

*Je souhaite adresser mes remerciements à ma belle-famille « **ESTABEN** » pour leur soutien et leur bienveillance, comme je tiens également à exprimer ma reconnaissance infinie envers mon mari et ma fille, « **Yoana Jade** ». Mon plus grand soutien et ma source d'inspiration quotidienne. C'est grâce à eux que je me tiens devant vous aujourd'hui pour présenter ma thèse. Enfin, je souhaite adresser un dernier remerciement à ma fille, le fruit de cette thèse, ma lumière quotidienne. Chaque jour, je me bats pour la rendre fière de sa maman et pour lui offrir un avenir meilleur. Leur amour et leur soutien ont été mes plus grands atouts et je leur suis infiniment reconnaissante pour tout ce qu'ils ont apporté à ma vie et à ce travail de recherche.*

Avant-propos

Je suis honorée de présenter cette thèse, fruit d'une cotutelle exceptionnelle, réalisée dans le cadre du projet "TASSILI". Cette collaboration a réuni deux établissements d'enseignement supérieur : Aix-Marseille Université et l'Université ORAN1 Ahmed BEN BELLA. Cette aventure intellectuelle a été guidée par le laboratoire Institut méditerranéen de biodiversité et d'écologie marine et continentale (IMBE), au sein de l'équipe OEB (origine et évolution de la biodiversité), ainsi que par le Laboratoire Aquaculture et Bioremédiation. L'ensemble de ces partenaires a contribué à la réussite de ce travail de recherche, que je suis impatiente de partager avec vous.

Équipe d'encadrement

Pr. Anne CHENUIL

Pr. LAMARA Sid Ahmed Chawki

Table des matières

Affidavit ..... *i*

Liste de publications et participation aux conférences ..... *ii*

Résumé projet Tassili ..... *iii*

Résumé de la thèse ..... *iv*

Abstract ..... *viii*

I. Introduction *1*

II. Généralités *5*

1. Généralités sur les zones humides **5**

1.1. Définition 5

1.2. Classification des zones humides 8

1.3. Les zones humides d'importance internationale 10

1.4. Importance des zones humides 13

1.5. Le cycle biochimique des zones humides 14

1.6. Distribution des zones humides 15

1.7. Cas des zones humides des régions arides 16

1.8. Vulnérabilité des écosystèmes des zones humides 17

1.9. Impacts écologiques du changement global sur les zones humides des régions arides. 19

2. Biodiversité **20**

2.1. Biodiversité des zones humides 22

2.2. Biodiversité des écosystèmes extrêmes 23

- Les écosystèmes thermophiles 23
- Les écosystèmes alcalins 24
- Les écosystèmes hypersalins 24

2.3. Les organismes extrêmophiles 25

- Les thermophiles 26
- Les halophiles 27

3. Estimation de la biodiversité **33**

3.1. L'ADN environnemental 34

3.2. Caractérisation de la diversité biologique en milieu aquatique par l'ADN environnemental 35

4. Site d'étude 36

4.1. Localisation géographique de la région 36

4.2. Description du site 37

III. Méthodologie de la recherche 38

1. Échantillonnage 38
2. Météorologie et hydrodynamique 40
3. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau 40
4. Cultures microbiologiques et isolement 41
5. Caractérisation physico-chimique d'isolats bactériens 42
6. Caractérisation phylogénétique des isolats bactériens 42
7. Culture des microalgues et isolement 44
8. Extraction d'ADN environnemental 45
9. Préparation de la bibliothèque d'amplicons et séquençage basé sur illumina . 46
10. Analyses bio-informatiques 50
11. Analyses statistiques 52

IV. Résultats 55

1. Météorologie locale et hydrodynamique 55
2. Variation temporelle de la physicochimie de l'eau 56
3. Variabilité spatiale des paramètres physico-chimiques de l'eau 59
4. Affiliation phylogénétique des isolats bactériens 61
5. Caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats extrêmophiles collectés 63
6. Identification morphologique des taxons observés au niveau des échantillons d'eau du Chott Ech Chergui 66
7. Effet de l'exposition de la souche *Scenedesmus sp* aux éléments métalliques (cadmium et cuivre) en fonction du temps 66
8. Diversité et abondance des jeux de données 16S et COI 67

8.1. Diversité procaryote en utilisant l'ADNr 16s 67

9. Facteurs et variables environnementales influençant la composition des communautés (diversité beta) 73

10. Diversité bêta (identification des taxons) : quels sont les principaux taxons influencés par l'habitat ? 81
11. Communauté microbienne extrême 81

V. Discussion 83

VI. Conclusion et Perspectives 95

ANNEXES 121

LISTE DES FIGURES

Figure 1. *Diversité des zones humides. Source : (Quels leviers pour la protection des zones humides ? | Auxilia Conseil(2016)..... 7*

Figure 2. *Cartes de répartition des Sites Ramsar et tableau récapitulatif du nombre de site Ramsar par région. En se référant aux données gratuites obtenues sur le site officiel de Ramsar. Les auteurs de la carte utilisent le logiciel ArcGIS 10.2 (Xu et al., 2019)..... 12*

Figure 3. *Exemples sur les services et le rôle des zones humide. Source : (Ramsar site : http://www.ramsar.org)..... 14*

Figure 4. *Le cycle biochimique des zones humides. Source : (NCWetlands-Wetland-water-cycle.))(modifiée)..... 15*

Figure 5. *Étendue reconstruite des zones humides drainées, perdues ou converties entre 1700 et 2020 dans le monde. 18*

Figure 6. *Diversité des environnements extrêmes. Source : (Merino et al., 2019). 23*

Figure 7 *Images de quelques milieux extrêmes* ***A :*** *zone géothermique Dallol en Inde ; B* ***:*** *Lac intérieur hypersalé de la mer morte ;* ***C :*** *Lac Magadi hyper alcalin ;* ***D :*** *Lac Yellowstone. Source : (google. Image). 24*

Figure 8. *Arbre phylogénétique montrant les extrémophiles et les caractéristiques de résistance qui apparaissent chez au moins une espèce de chaque genre, identifiés par le code couleur (Dalmaso et al., 2015). 25*

Figure 9. *Mécanismes moléculaires d'adaptation des extrémophiles aux conditions environnementales extrêmes. Source : (Orellana et al., 2018a). 32*

Figure 10. *Applications du métabarcodage de l'ADN environnemental dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Source :(Berry et al., 2021) (modifié). 35*

Figure 11. *Chronologie de six études clés qui marquent l'histoire de la recherche sur l'eDNA dans les environnements aquatiques. Source : (Takahashi et al., 2023). 36*

Figure 12. *Localisation géographique du chott Ech Chergui et des sites de prélèvement près d'Ain Skhouna. Carte du réseau hydrologique algérien (A). Représentation de la zone humide du Chott Ech Chergui (B). Localisation des sites d'étude (C) : Source Zawia :Hot-Spring-1 (Site N°1), Chott Ech Chergui :Chott (Site N°2), Large-Sebkha :L-Sebkha (SiteN°3), Source Ain Skhouna :Hot-Spring-2(SiteN°4), Basin (Site N°5), Small sebkha :S-Sebkha(Site N°6) et Oued (Site N°7)..... 39*

***Figure 13**. Schéma récapitulatif du processus de préparation de la library pour le métabarcodage et séquençage illumina.* *47*
***Figure 14.** Préparation des réplicas technique à partir du schéma de la plaque d'ADN et étape de la 1ère PCR.* *49*
***Figure 15**. Préparation des pools des réplicat technique de la 1ère PCR et préparation de la librairie de la 2ème PCR amplification et purification.* *50*
***Figure 16.** Diagramme ombrothermique de la région d'Ain Skhouna (A). Variation de l'indice d'aridité (B) et variation de la profondeur d'eau à chaque site échantillonné du Chott Ech Chergui (C) au cours de la campagne d'échantillonnage (décembre 2018 à novembre 2019).* *56*
***Figure 17.** Dynamique des paramètres physico-chimiques de l'eau aux différents sites de prélèvement du Chott Ech Chergui entre décembre 2018 et novembre 2019 : température, A ; pH, B ; salinité, C ; Oxygène dissous, D ; turbidité E ; dureté F ; conductivité, G ; matière organique H ; teneur en magnésium, I ; teneur en calcium, J ; teneur en chlorure, K ; matières en suspension, L ; teneur en ammonium, M : teneur en nitrate, N ; teneur en nitrites, O ; orthophosphates, P. Les lettres majuscules indiquent les mois d'échantillonnage successifs sur l'axe des X. Pour plus de commodité, la légende en couleur des sites est affichée dans le graphique M.* *58*
***Figure 18.** Ordination contrainte à partir de l'analyse canonique des coordonnées principales (analyse CAP) discriminant les différents sites de prélèvement du Chott Ech Chergui selon les paramètres physico-chimiques de l'eau mesurés de décembre 2018 à novembre 2019 (A). Le cercle de corrélation de Pearson superposé montre les vecteurs de corrélations des paramètres physico-chimiques individuels : température (T°), pH, oxygène dissous (O2), turbidité, matière organique (MO), teneur en magnésium (Mg++), matières en suspension (MS), teneur en ammonium (NH4+), teneur en nitrates (NO3-), teneur en nitrites (NO2-), orthophosphates (PO43) et conductivité. Ce dernier vecteur est représentatif de la variation de la salinité, de la dureté, de la teneur en calcium et de la teneur en chlorure, montrant un coefficient de corrélation r>0,84. La comparaison de la variabilité physico-chimique entre les sites d'échantillonnage est présentée sur les deux axes les plus discriminants CAP1 et CAP2 (b et c, respectivement). Les valeurs affectées d'une lettre différente sont significativement différentes* *60*
***Figure 19.** Affiliation taxonomique d'isolats bactériens par reconstruction phylogénétique de leurs séquences d'ADNr 16s et de celles des isolats de firmicutes (A) et des isolats de*

protéobactéries (B) collectées sur la base de données NCBI GenBank (voir aussi tableau 2.). *62*

Figure 20. *Analyse comparative de la richesse taxonomique dans les environnements sédimentaires et aquatiques obtenue par métabarcodage à l'aide des marqueurs 16S ARNr et COI. Les graphiques à barres pondérées par l'abondance illustrent le nombre d'unités taxonomiques opérationnelles (mOTUs) dans différents sites du Chott Ech Chergui. Les données ont été standardisées en utilisant une transformation en racine carrée avant de générer les graphiques à barres, permettant une visualisation améliorée des phylums à faible abondance. Les barres codées en couleur représentent la composition des phylums, mettant en évidence la diversité de la communauté.* *68*

Figure 21. *Courbes d'accumulation de la diversité (nombre de mOTUs) basées sur des échantillonnages mensuels pour chaque site, type d'échantillon et marqueur de séquençage (16S et COI). Les courbes illustrent le décompte cumulatif de mOTUs sur une période de 12 mois pour chaque site, type d'échantillon et marqueur de séquençage. Le premier graphique représente les données 16S dans les sédiments, où chaque courbe correspond à un site, avec les mois sur l'axe des x et le nombre de mOTUs sur l'axe des y. Le deuxième graphique présente les données 16S dans l'eau, le troisième graphique montre les données COI dans les sédiments, et le quatrième graphique affiche les données COI dans l'eau, tous partageant les mêmes noms de site, axes x et y.* *72*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. *Definition des zones humides selon trois sources (Ecology of Wetland Ecosystems: Water, Substrate, and Life | Learn Science at Scitable)* ***(Cherry, J. A, 2011)*** *5*

Tableau 2. *Les principaux types de zones humides(Service and Cowardin, 1979; Keddy, 2010; Brinson, 2011, 2011)* *8*

Tableau 3. *Tableau des caractéristiques des types de zones humides selon RAMSAR((Typologie des zones humides de la convention de Ramsar)* *9*

Tableau 4. *Les limites de vie des microorganismes polyextrêmophiles en culture pure (Egamberdieva et al., 2018)* *26*

Tableau 5 *Quelques exemples d'application en bioremédiation de souches halophiles (Orellana et al., 2018b)* *32*

Tableau 6. *Caractéristiques des sites d'échantillonnage de la zone humide du Chott Ech Chergui* *39*

***Tableau 7**. Plan de configuration de la plaque d'ADN pour l'analyse métabarcodage.....46*
***Tableau 8.** Affiliation Taxonomique et caractérisation phénotypique et biochimique des isolats de bactéries du Chott Ech Chergui.....65*
***Tableau 9.** Aires de répartition géographique des espèces d'eucaryotes retrouvées dans lesdonnées de métabarcodage du gène COI et sites de présence dans le Chott Ech Chergui 71*
***Tableau 10.** Moyenne de similarité Bray-Curtis entre les paires de sites. Les comparaisons entre les sites alimentés par la même source thermale sont dans les cellules grises : Hot-Spring-1, Chott et L-Sebkha d'une part, et Hot-Spring-2,Basin et S-Sebkha d'autre part. 80*

I. Introduction

Les zones humides représentent environ 40 % de la valeur globale des services écosystémiques dans le monde (Gardner and Finlayson, 2018). En tant que sources et réservoirs d'eau, et grâce à l'allocation de nutriments et l'approvisionnement en ressources, elles soutiennent une bioversité riche. Les zones humides assurent également la protection des populations environnantes contre les inondations et les sécheresses. A l'échelle mondiale, ce sont d'importants puits de carbone., Cependant elles sont gravement menacées par le changement global qui est maintenant responsable de la perte de 21 % des zones humides (Fluet-Chouinard *et al.*, 2023a).

Dans les écosystèmes extrêmes, les zones humides fournissent des habitats uniques pour les organismes qui se sont adaptés pour survivre dans des conditions difficiles, telles que des températures basses ou élevées, une salinité importante , un pH acide ou alcalin ou une aridité chronique. Ces organismes appelés ‘’extrêmes’’ ont une capacité remarquable à repousser les limites de la vie et à fournir des informations précieuses sur la dynamique de la biodiversité, l'exobiologie et des ressources pour la biotechnologie (Loudière and Gourbesville, 2020).

Plusieurs zones humides en environnements extrêmes ont été étudiés et notamment avec des outils innovants de métabarcodage, comme les sources chaudes dans le sud-ouest de l'Ouganda (Leoni *et al.*, 2020), la zone géothermique de Dallol (Belilla *et al.*, 2019), les sources thermales en Turquie (Çelik and Keskin, 2022), le lac salin de Margherita di Savoia (Italie) (Nabagye and Yatuha, 2022), et le lac salé en région aride du sud de l'Oural au Kazakhstan (Gerasimova *et al.*, 2023). Les chercheurs ont réalisé des évaluations de la biodiversité qui se développent dans ces conditions et sur la manière dont elle s’est adaptée pour survivre. Cependant, d'autres écosystèmes aquatiques menacés par le changement climatique sont actuellement peu étudiés et nécessitent des recherches plus approfondies (Pereira *et al.*, 2012 Loudière and Gourbesville, 2020; Rapport 2020 – L’eau et les changements climatiques).

Le développement de méthodes moléculaires, telles que l'ADN environnemental (ADNe), a révolutionné la façon dont les scientifiques étudient la biodiversité. Avec le développement des bases de données de barcodes, les scientifiques sont désormais

capables de mieux protéger, surveiller et de restaurer les écosystèmes aquatiques et les organismes uniques qui les habitent. L'attention croissante portée à l'utilisation de l'ADNe dans l'écologie et la conservation a conduit à un intérêt accru pour la protection des écosystèmes extrêmes (Quintero-Galvis *et al.*, 2022).

En Afrique du Nord, les zones humides situées à la porte des déserts arides sont confrontées à des conditions extrêmes de sécheresse et de température élevée qui les rendent encore plus vulnérables au changement climatique, avec des conséquences importantes sur la biodiversité et les services écosystémiques qu'elles fournissent. En Algérie, le Chott Ech Chergui (34°16'N 00°33'E), l'une des plus vastes zones humides africaines couvre une superficie de 855 500 hectares (altitude 1000 m) à la frontière du désert algérien entre le nord de l'Atlas tellurique et le sud de l'Atlas saharien. Sa nappe phréatique est constituée de trois aquifères interconnectés (aquifères Tertiaire continental, Sénéonique et Bajo-Bathon) (Aoudia *et al.*, 2020)) d'où émergent des sources thermales naturelles. Celles-ci ont été exploitées par forage entre 1985 et 1990 pour créer un périmètre irrigué de 2850 ha et permettre l'expansion agricole dans une zone aussi inhospitalière. À mesure que l'aridité augmentait dans la région, une diminution du débit des sources chaudes a été observée (de 600 $L.s^{-1}$ en 1960 à 80 $L.s^{-1}$ en 2019), (Remini, 2010 ; Communication personnelle, 2019 direction générale des forêts de Saïda,). Ceci a mis en évidence la baisse du niveau de la nappe phréatique et la vulnérabilité de la zone humide, d'autant plus que le Chott Ech Chergui est une dépression peu profonde à fond plat appelée localement « sebkha ». Cette zone a été inscrite sur la liste des zones humides d'importance internationale de la Convention de Ramsar en 2001 (http://www.ramsar.org). Depuis, des projets d'irrigation et d'aménagement hydraulique ont été mis en œuvre dans les environs du Chott Ech Chergui pour promouvoir l'agriculture et le tourisme. Ces projets visent à valoriser les réserves d'eau souterraine du Chott Ech Chergui pour leurs bénéfices économiques. Ces activités ont cependant des conséquences directes sur la préservation de la biodiversité locale du Chott Ech Chergui et doivent faire l'objet d'un suivi attentif pour assurer la protection des organismes uniques qui y vivent.

La zone humide de Chott Ech Chergui reste néanmoins peu étudiée (Arabi and Mederbal, 2016). Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de surface et la biodiversité qu'elle recèle sont encore inconnues, bien que ces caractéristiques soient essentielles pour comprendre la dynamique de la zone humide, sa dégradation et pour définir *in fine* des

stratégies de conservation. De plus, compte tenu de sa localisation, le Chott Ech Chergui est un possible réservoir de micro-organismes présentant des caractéristiques extrêmes propres aux écosystèmes arides representant des atouts pour les avancées biotechnologiques. La diversité des écosystèmes extrêmes offre une panoplie d'habitats hostiles, allant des déserts arides aux glaciers. Dotés d'adaptations particulières aux ecosystèmes extrêmes, les micro-organismes extrêmophiles ont développé des biomolécules stables pour faire face aux conditions de ces écosystèmes . Ces biomolécules ont déjà démontré leur succès commercial dans des secteurs tels que la biotechnologie de l'ADN polymérase, les biocarburants, l'exploitation minière et les caroténoïdes. Elles occupent une place prépondérante sur un marché en expansion constante (Berlemont and Gerday, 2011; Coker, 2016; Daoud and Ben Ali, 2020).

Dans cette étude, nous avons cherché à décrire les caractéristiques physico-chimiques et leurs variations saisonnières, la biodiversité microbienne ainsi que la diversité des eucaryotes du Chott Ech Chergui.

Pour atteindre cet objectif, nous avons établi une campagne d'échantillonnage mensuel des sédiments et de l'eau de six sites au sein de Chott Ech Chergui, pendant 12 mois consécutifs.

Tout d'abord, avec la collaboration de l'entreprise SEOR ORAN, plusieurs paramètres physico-chimiques clés ont été mesurés. Nous avons commencé avec une approche microbiologique, qui a permis une identification morphologique, biochimique et phylogénétique basée sur le séquençage de l'ADNr 16s d'une collection de cultures de bactéries extrêmophiles. Nous avons par la suite utilisé une approche de métabarcodage pour analyser la composition de la communauté procaryote (bactérienne, archée) et eucaryote en utilisant les gènes d'ARNr 16S et d'ADN mitochondrial COI, afin de mieux comprendre la biodiversité de ce site. Enfin, nous avons tenté d'identifier les facteurs qui structuraient la diversité des communautés. Pour ceci, nous avons étudié dans quelle mesure la composition des communautés, décrites par le métabarcodage, était expliquée par les variables environnementales, et par l'importance des connexions dans le réseau hydrographique. En effet, le milieu étudié présente des conditions environnementales très contrastées et extrêmes exerçant potentiellement une forte pression de sélection sur les organismes, présageant un fort rôle des variables environnementales dans la composition des communautés. Par ailleurs, les différents sites sont connectés et assez proches entre eux. Dans ce contexte, il était intéressant de rechercher si ces connexions

permettaient la dispersion d'organismes entre sites au point de brouiller le signal environnemental et de contredire le paradigme des communautés microbiennes « everything is everywhere and the environment selects ».

Cette étude fournit la première base de données sur la diversité microbiologique du Chott Ech Chergui et offre des informations cruciales pour gérer et protéger efficacement cette zone humide d'importance mondiale.

II. Généralités

1. Généralités sur les zones humides

1.1. Définition

Les zones humides sont considérées comme les reins de la Terre (Yang *et al.*, 2023). Elles constituent des espaces de transition entre les écosystèmes terrestres et aquatiques où l'eau représente le principal facteur de contrôle de l'environnement et de la biodiversité. Cependant l'élaboration d'une définition précise des zones humides a présenté certaines difficultés et a abouti à de nombreuses variantes (Ecology of Wetland Ecosystems: Water, Substrate, and Life | Learn Science at Scitable) **(Cherry, J. A, 2011)** (**Tableau 1**).

Tableau 1. Definition des zones humides selon trois sources (Ecology of Wetland Ecosystems: Water, Substrate, and Life | Learn Science at Scitable) **(Cherry, J. A, 2011)**

Origine	Définition	Citation
Service américain de la pêche et de la faune (USFWS)	Constituent des espaces de transition entre les systèmes terrestres et aquatiques où la nappe phréatique se trouve généralement à la surface ou près de la surface ou où la terre est couverte d'eau peu profonde. Les zones humides doivent avoir un ou plusieurs des trois attributs suivants : 1. au moins périodiquement, les terres abritent principalement des hydrophytes ; 2. le substrat est principalement un sol hydrique non drainé ; et 3. le substrat n'est pas du sol et est	(Cowardin et al, 1979)

	saturé d'eau ou recouvert d'eau peu profonde à un moment donné pendant la saison de croissance de chaque année.	
Convention de Ramsar sur les zones humides	Zones de marais, de tourbières ou d'eau, naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, avec de l'eau statique ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris les zones d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas 6 mètres.	(Finlayson et Moser, 1991) (http://www.ramsar.org). Référence originale : Finlayson, M., & Moser, M. (1991). Wetlands: International Waterflow and Wetland Research Bureau (IWRB), Facts and files.
Conseil national de recherches (CNRC)	Les caractéristiques essentielles minimales d'une zone humide sont une inondation ou une saturation récurrente et soutenue à la surface ou à proximité et la présence de caractéristiques physiques, chimiques et biologiques reflétant cette inondation ou cette saturation. Les caractéristiques diagnostiques courantes des zones humides sont les sols hydriques et la végétation hydrophyte.	(Wetlands *et al.*, 1995) (CNRC 1995) sous référence : National Research Council. (1995). *Wetlands: Characteristics and boundaries*. National Academies Press.

Divers systèmes de classification des zones humides ont été développés pour servir différents objectifs. Dans la classification des zones humides et des habitats en eaux profondes des États-Unis (1979), l'USFWS a présenté un système hiérarchique basé sur

cinq types d'écosystèmes : marin, estuarien, fluvial, lacustre et palustre (Cowardin *et al.1979* ; Ménard, 2007) (**Figure1**). D'autres systèmes de classification sont plus systématiquement fondés sur la structure physique des terres humides, leur fonction par les régimes hydrologiques et le rôle des terres humides ou les objectifs de gestion dont leurs utilisations par les humains.

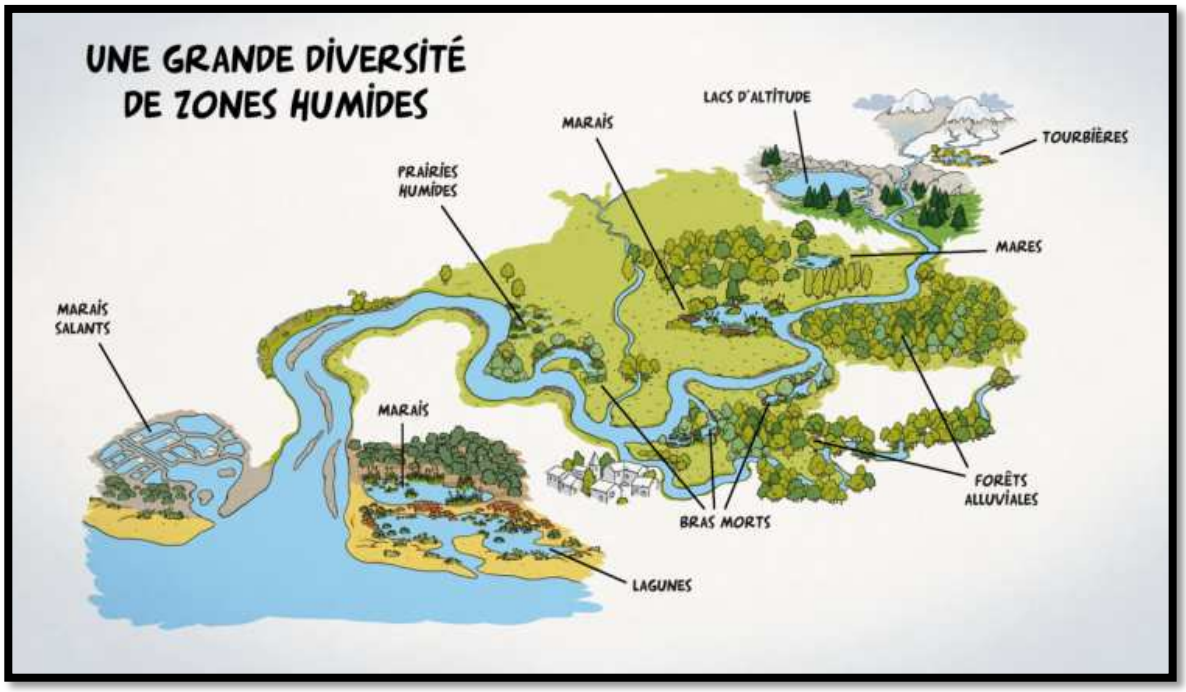


Figure 1. Diversité des zones humides. Source : (Quels leviers pour la protection des zones humides ? | Auxilia Conseil (2016).

Selon la définition de la convention Ramsar établie en1971 (http://www.ramsar.org) qui est basée uniquement sur des critères de présence d'eau, une zone humide est « une étendue de marais, de fagnes, de tourbières d'eaux naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, où l'eau est stagnante ou courante, douce, saumâtre ou salée, y compris des étendues d'eau marine dont la profondeur à marée basse n'excède pas six mètres ». Des critères supplémentaires ont été ajoutés par la législation française pour définir les zones humides comme des « terrains, exploités ou non, habituellement inondés ou gorgés d'eau douce, salée ou saumâtre de façon permanente ou temporaire ; la végétation, quand elle existe, y est dominée par des plantes hygrophiles pendant au moins une partie de l'année », (Article L.211-1 du Code de l'Environnement. Extrait de Zones humides, zones utiles - AERMC, 2016).

1.2. Classification des zones humides

Les zones humides sont classées en fonction de leurs services écologiques et de leur valeur économique spécifiques aux besoins de la société. Ces systèmes de classification et stratégies de gestion évoluent à mesure que les besoins de la société changent à la fois spatialement et temporellement. (Brinson, 2011).

Aujourd'hui il existe de nombreuses classifications des zones humides, de portée locale, nationale, européenne ou mondiale. Elles s'appuient souvent sur trois grandes catégories : leur fonction (quelles activités accomplissent-elles ?), leur structure (quelle est leur apparence ?) et leur utilité (quels sont leurs rôles et avantages ?) (Brinson, 2011). La classification de Keddy (Wetlands *et al.*, 1995; Keddy, 2010; Brinson, 2011) propose quatre principaux types de zones humides : les marécages, les marais, les tourbières et les étang **(Tableau 2)**.

Tableau 2. Les principaux types de zones humides(Cowardin, 1979; Keddy, 2010; Brinson, 2011, 2011)

	Type de sol	Type de Végétation dominante	Hydrologie	Nappe phréatique	Espèces typiques
 MARAIS	Minéral ou organique	Plates herbacées	Généralement riverain à une rivière ou un lac	Recouvre la surface du sol (permanant, périodique ou temporaire)	Roseaux , sagittaires, carex…
 MARECAGE	Minéral	Arbres ou arbustes	Riverain ou isolé	Affleure fréquemment ou recouvert une partie de l'année	Frêne noire, érable (rouge ou argenté)…
 ETANG	–	Absente ou très rare	Isolé ou partie d'un milieu humide	Profondeur d'eau inférieur à 2mètres en période d'étiage	
 TOURBIERE	Organique	Bryophytes et plantes herbacées ou arbres et arbustes	Riverain ou isolé	Affleure fréquemment ou recouvert une partie de l'année	Sphaigne, mousse, carex…

Cependant le système de classification de la Convention Ramsar des types de zones humides comprend 35 types de zones humides que l'on peut trouver dans le monde entier. Cinq sont fréquemment présents dans les régions arides continentales : Lacs salés/saumâtres/alcalins permanents ; Lacs salés/saumâtres/alcalins saisonniers/ intermittents ; marais salins/saumâtres/alcalins permanents ; marais salins/saumâtres/alcalins saisonniers/ intermittents ; Sources d'eau douce ; oasis.

L'ensemble des zones humides est classé en trois catégories : les zones humides marines et côtières ; zones humides continentales et zones humides artificielles (**Tableau 3**)

Tableau 3. Tableau des caractéristiques des types de zones humides selon RAMSAR((Typologie des zones humides de la convention de Ramsar)

Zones humides marines / côtières :

Eau salée	Permanente	<6m de profondeur
		Végétation submergée
		Récifs coralliens
	Rivage	Sable ou galets
		Rocheux
Eau salée ou saumâtre	Étendue	Vasière, banc de sable ou terre salée
		Marais
		Zone boisée
	Lagunes	
	Eaux estuariennes	
Eau salée ou saumâtre	Souterraine	
Eau douce.	Lagunes	

Zones humides continentales :

Eau douce	Eau courante	Permanents	Rivières, cours d'eau, ruisseaux
			Deltas
			Sources, oasis
		Saisonniers	Rivières, cours d'eau, ruisseaux
	Mares et lacs	Permanents	>8 ha Ou <8 ha

		Saisonniers	>8 ha Ou <8 ha
	Marais sur sols inorganiques	Permanents	Dominés par des plantes herbacées
		Permanents ou saisonniers	Dominées par des buissons
		Saisonniers	Dominés par des plantes herbacées
	Marais sur sols tourbeux	Permanents	Boisés
			Non boisée
	Marais sur sols tourbeux ou inorganiques	Haute altitude (alpins)	
		Toundra	
Eau salée, saumâtre ou alcaline.	Lacs		
	Marais, mares		
Eau salée, saumâtre, douce ou alcaline	Géothermique		
	Souterraine		

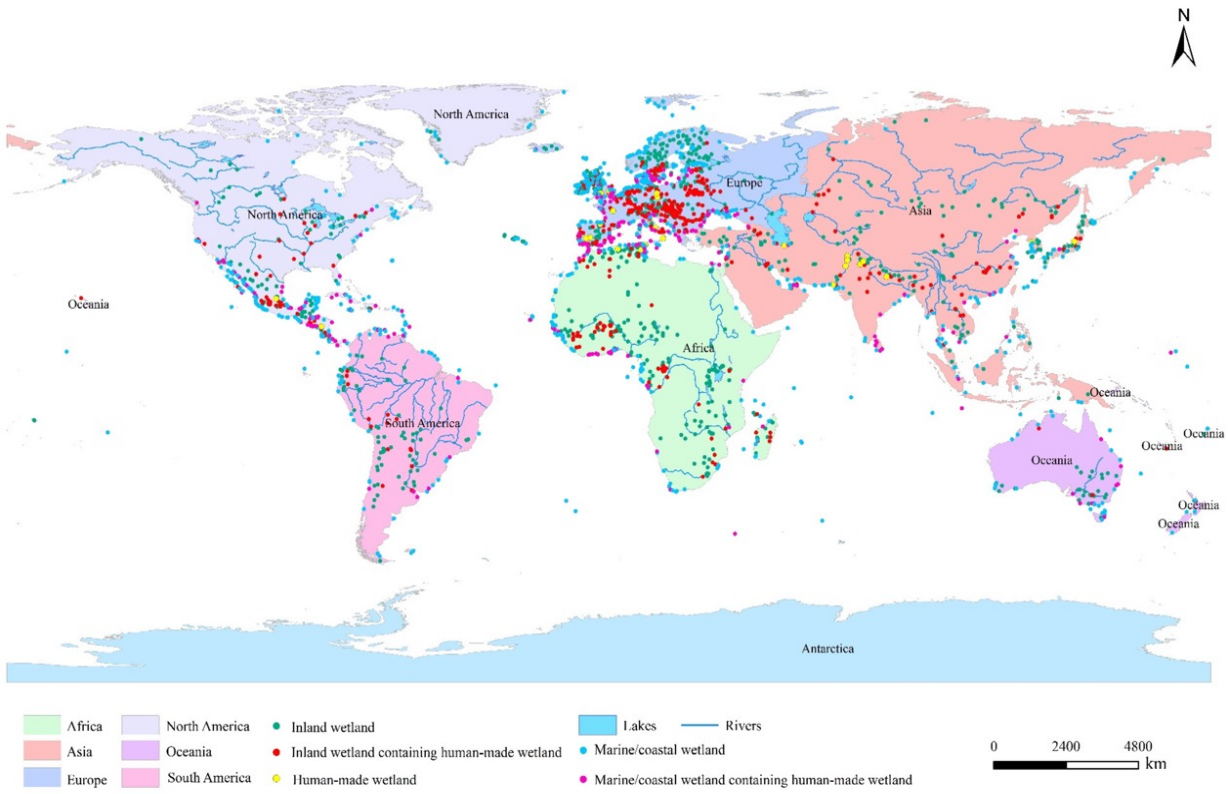
1.3. Les zones humides d'importance internationale

Les zones humides Ramsar sont désignées parce qu'elles répondent aux « critères d'identification des zones humides d'importance internationale » (Ramsar site : http://www.ramsar.org). Le premier critère fait référence aux sites contenant des types de zones humides représentatifs, rares ou uniques, et les huit autres couvrent les sites d'importance internationale pour la conservation de la diversité biologique. Ces critères soulignent l'importance que la Convention accorde au maintien de la biodiversité. Les parties contractantes ont confirmé en 2005 que leur vision pour la Liste Ramsar est « de développer et de maintenir un réseau international de zones humides qui sont importantes pour la conservation de la diversité biologique mondiale et pour le maintien

de la vie humaine à travers le maintien de leurs composantes, processus et avantages écosystémiques » (Ramsar site : http://www.ramsar.org).

Aujourd'hui, la Liste Ramsar des zones humides constitue le plus grand réseau mondial d'aires protégées (**Figue 2**). Il existe plus de 2 400 Sites Ramsar sur les territoires de 172 parties contractantes à la convention à travers le monde, couvrant plus de 2,5 millions de kilomètres carrés (Ramsar site : http://www.ramsar.org).

Selon l'étude de Xu *et al.*, (2019) les zones humides d'importance internationale sont réparties inégalement sur les différents continents. L'Afrique domine par la superficie de ses sites et l'Europe possède le plus grand nombre de sites. Les facteurs dominant de leurs classifications sont : la pollution (54 %), l'utilisation des ressources biologiques (53 %), la modification des systèmes naturels (53 %) et l'agriculture et l'aquaculture (42 %).



Localisation	Nombre de site Ramsar
Afrique	424
Asie	420
Europe	1127
Amérique Latine	216
Amérique du Nord	222
Océans	85
Algérie	50

Figure 2. Cartes de répartition des Sites Ramsar et tableau récapitulatif du nombre de site Ramsar par région. En se référant aux données gratuites obtenues sur le site officiel de Ramsar. Les auteurs de la carte utilisent le logiciel ArcGIS 10.2 (Xu *et al.*, 2019)

1.4. Importance des zones humides

Les zones humides sont vitales pour les humains. Plus d'un milliard de personnes dans le monde dépendent de ces zones humides pour leur subsistance (Lionelle and Laura, 2020). Les zones humides fournissent des services écosystémiques qui gravitent autour de l'eau (**Figure 3**), tels que la purification de l'eau pour la potabilité, la production agricole, la pêche et le tourisme, la production de l'énergie, la protection contre les inondations combinées au contrôle de l'érosion et le transport des sédiments par la régulation de l'eau. Les zones humides contribuent également à la formation des terres et permettent donc de résister aux tempêtes (Ramsar site : http://www.ramsar.org)(Lionelle and Laura, 2020). Cela s'explique par le fait que en zone humide, la couverture végétale affecte l'écoulement et la rétention de l'eau, et donc la disponibilité des eaux de surface et souterraines (Zhang *et al.*, 2019). La transpiration des plantes affecte les régimes de précipitations (Misra and Tripathi, 2021) et la biodiversité joue un rôle vital dans le cycle des nutriments et dans le cycle du carbone (Barreto and Lindo, 2022; Erktan *et al.*, 2022). Sans les zones humides, le cycle de l'eau, le cycle du carbone et le cycle des nutriments changeraient considérablement (Kolka *et al.*, 2021). D'autre part, le cycle de l'eau est essentiel à la biodiversité et au fonctionnement de la quasi-totalité des écosystèmes terrestres et côtiers (Cardinale *et al.*, 2012). En revanche, la grande valeur des services écosystémiques que les zones humides fournissent à l'homme, continue d'être dégradée ou perdue en raison de la surexploitation de ces services (Ipbes, 2018).

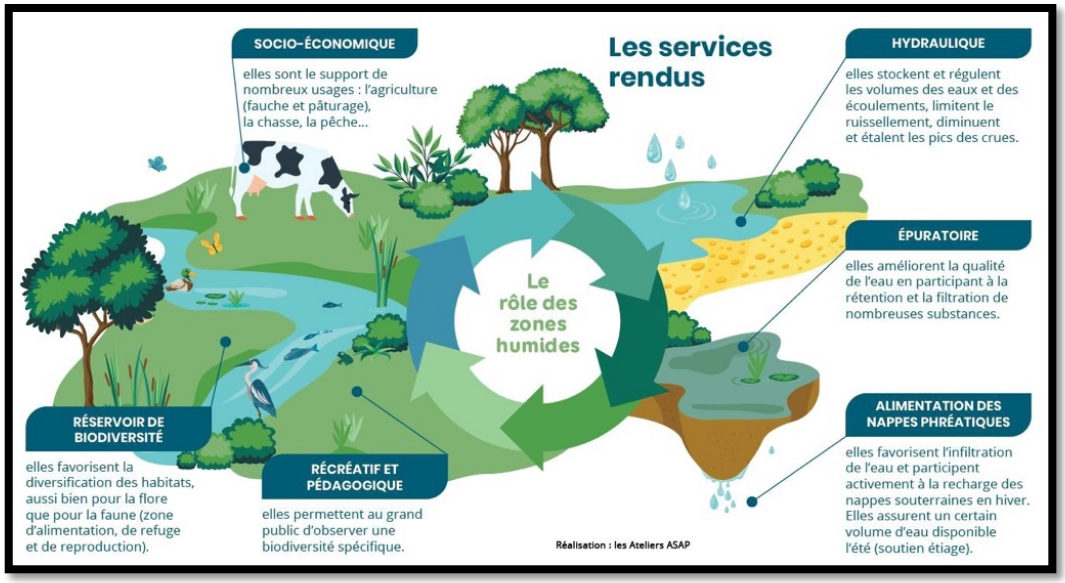


Figure 3. Exemples sur les services et le rôle des zones humide. Source : (Ramsar site : http://www.ramsar.org).

1.5. Le cycle biochimique des zones humides

Le cycle biochimique des zones humides est contrôlé par les interactions entre l'eau, le sol, les plantes et les micro-organismes (Mellado and Vera, 2021; Wang *et al.*, 2023). Ces interactions se traduisent par un ensemble de réactions chimiques et de processus qui sont cruciaux pour le fonctionnement de ces zones humides. Ces écosystèmes jouent un rôle important dans les cycles mondiaux de l'eau et du carbone, servant de puits de dioxyde de carbone et d'autres gaz à effet de serre, et de source d'eau propre (Elodie, 2021).

La biodiversité assure des fonctions indispensables dans la chimie du cycle des zones humides, participe à la décomposition de la matière organique et à la libération de nutriments dans l'écosystème, ce qui favorise la croissance des plantes et d'autres organismes (Singh *et al.*, 2022). Elle est également impliquée dans les processus de dénitrification et de réduction du soufre, qui contribuent à réguler les niveaux d'azote et de soufre dans l'écosystème (Mellado and Vera, 2021). Ces interactions participent au maintien de l'équilibre écologique des zones humides (Bodelier and Dedysh, 2013).

Les plantes, possèdent un rôle dans le cycle des nutriments et le stockage du carbone dans les zones humides. Leurs racines peuvent aider à prévenir l'érosion et fournir des habitats à d'autres organismes, tandis que leurs feuilles peuvent fournir de l'ombre et aider à réguler la température de l'eau (Sandoval *et al.*, 2019). La présence de végétation dans les zones humides contribue également au maintien de la chimie de l'eau en influençant les échanges de gaz et le transfert de nutriments entre l'eau et l'atmosphère (Cronk and Fennessy, 2001).

Le cycle biochimique des zones humides (**Figure 4**) est également influencé par les niveaux d'eau fluctuants et la chimie de l'eau qui change souvent (Casanova and Brock, 2000). L'eau des tourbières est généralement acide en raison de l'accumulation de tourbe et de faibles niveaux de minéraux dissous, tandis que les marais et les marécages sont souvent plus neutres ou alcalins en raison de la présence de minéraux et de matières organiques provenant des sols environnants.

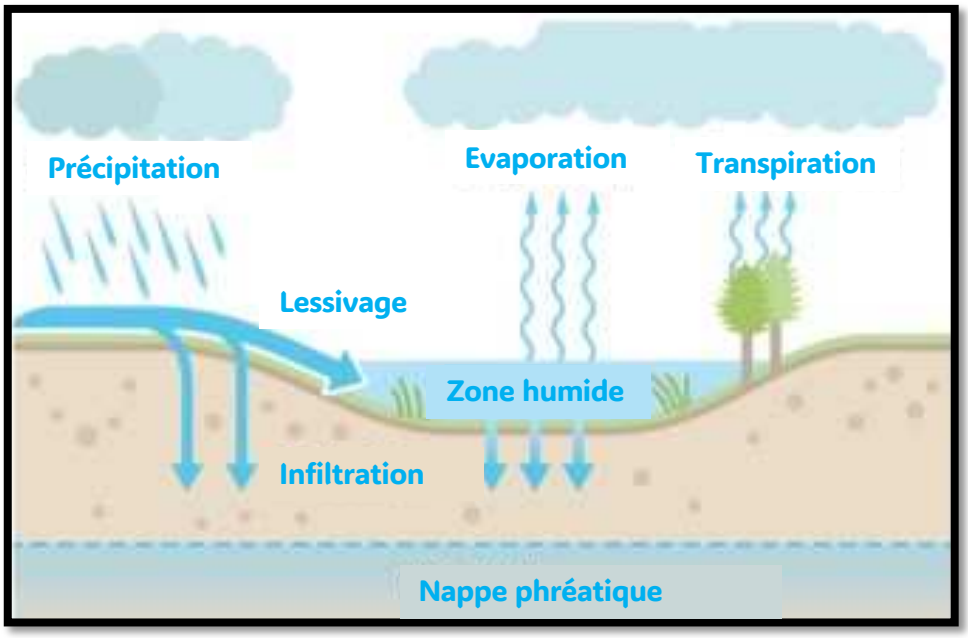


Figure 4. Le cycle biochimique des zones humides. Source : (NCWetlands-Wetland-water-cycle.))(modifiée)

1.6. Distribution des zones humides

Les zones humides sont réparties partout dans le monde (Ramsar site : http://www.ramsar.org). L'estimation de la superficie mondiale des zones humides dépasse $12{,}1.10^6$ km^2, dont 54% sont inondées en permanence et 46% sont temporairement inondées. À l'échelle mondiale, 92,8% des zones humides se trouvent à l'intérieur des terres et seulement 7,2% sont côtières. Au niveau continental (Davidson *et al.*, 2018), les plus grandes zones humides se trouvent en Asie (31,8%), en Amérique du Nord (27,1%) et en Amérique latine et dans les Caraïbes (15,8%), avec des zones humides plus petites en Europe (12,5%), en Afrique (9,9%) et en Océanie. (2,9%) (Davidson *et al.*, 2018).

Cette distribution est généralement due à des conditions qui favorisent une abondance d'eau et se forment près des côtes, des rivières ou d'autres endroits où l'apport local d'eau dépasse la consommation par les organismes vivants, cependant une partie des zones humides se trouve dans le désert chaud (Hollis, 1990).

La formation des zones humides est influencée par les modèles climatiques et les limites posées par les reliefs (Winter, 1988). Le bilan net des précipitations et de l'évaporation détermine le moment auquel l'eau est disponible, ainsi que sa quantité, pour la formation ou le maintien des conditions des terres humides. Les inondations des zones humides ont

des conséquences biologiques, car elle empêche le stock d'oxygène d'être reconstitué dans le sol à partir de l'oxygène atmosphérique. Par conséquent, seuls les organismes qui peuvent tolérer ou s'adapter à des conditions à faible teneur en oxygène ou anoxiques peuvent survivre (Sahagian and Melack, 1998; Fluet-Chouinard *et al.*, 2015; Tiegs *et al.*, 2019).

Chaque zone humide a une empreinte hydrique, ou hydro-période, qui est caractérisée par la quantité d'eau, la période (ex : inondation), la durée et le système (Manière de circulation et stockage d'eau) (Sahagian and Melack, 1998; Fluet-Chouinard *et al.*, 2015; Tiegs *et al.*, 2019).

1.7. Cas des zones humides des régions arides

Les zones humides des régions arides sont des écosystèmes atypiques qui se trouvent dans les endroits les plus secs du monde, tels que les déserts, et d'autres zones qui reçoivent peu ou pas de précipitations (Minckley *et al.*, 2013). Malgré les conditions difficiles des climats arides, ces zones humides peuvent persister en raison de la présence d'eau provenant d'aquifères souterrains, de pluies saisonnières ou d'autres sources (Minckley *et al.*, 2013). Malgré leur environnement hostile, ces zones humides peuvent abriter une riche diversité de vie végétale et animale, y compris des espèces rares et menacées. Cela est dû principalement au fait que ces zones humides fournissent des ressources essentielles, telles que la nourriture et l'eau, à de nombreuses espèces, en particulier pendant les périodes sèches (Sene *et al.*, 2006). Ces zones humides servent également d'importants sites de reproduction et de nidification pour diverses espèces d'oiseaux (Gxokwe *et al.*, 2020; Royal C. Gardner and and C. Max Finlayson).

L'une des principales caractéristiques des zones humides des régions arides est la présence d'eaux peu profondes ou de sols humides. D'où la dominance d'une végétation, comme les roseaux, les herbes et les arbustes, qui fournissent de la nourriture et un abri à un large éventail d'animaux sauvages (Loudière and Gourbesville, 2020).

Un autre aspect crucial de cet écosystème est leur rôle dans la gestion de l'eau. Ces zones humides sont capables de réduire les impacts des crues soudaines en ralentissant l'écoulement de l'eau et en réduisant l'érosion, de capter, stocker et libérer de l'eau, aidant

ainsi à recharger les aquifères souterrains et à maintenir la santé des écosystèmes environnants (Wilcox *et al.*, 2017).

Même si les zones humides des zones arides offrent de nombreux avantages, elles sont également confrontées à de nombreux défis. Le changement global a des impacts majeurs sur les zones humides des zones arides, car la hausse des températures et la baisse des précipitations modifient la disponibilité de l'eau et l'écologie de ces systèmes (Gardner and Finlayson, 2018).

Il est important de comprendre les caractéristiques et les défis auxquels elles sont confrontées afin de développer des stratégies de conservation efficaces. Cela pourrait inclure la protection et la restauration des habitats des zones humides, la protection des sources d'eau et la gestion des activités humaines afin de minimiser les impacts sur ces zones humides (Loudière and Gourbesville, 2020).

1.8. Vulnérabilité des écosystèmes des zones humides

Selon les indicateurs mondiaux actuels de la biodiversité et du fonctionnement des écosystèmes, les zones humides comptent parmi les écosystèmes qui déclinent, disparaissent et se dégradent le plus rapidement (**Figure 5**). Affectées par des facteurs directs et indirects tels qu'une croissance_démographique rapide, une production et une consommation_non_durables, le drainage et l'enfouissement des terres cultivées et des bâtiments, l'irrigation domestique, la pollution, la surpêche, la surexploitation des ressources, les espèces envahissantes, le développement industriel et l'urbanisation, le progrès technologique ainsi que le changement climatique, les zones humides disparaissent trois fois plus vite que les forêts et constituent les zones les plus menacées de la planète. (Fluet-Chouinard *et al.*, 2015 ; Gardner and Finlayson, 2018 ; Loudière and Gourbesville, 2020 ; Fluet-Chouinard *et al.*, 2023a).

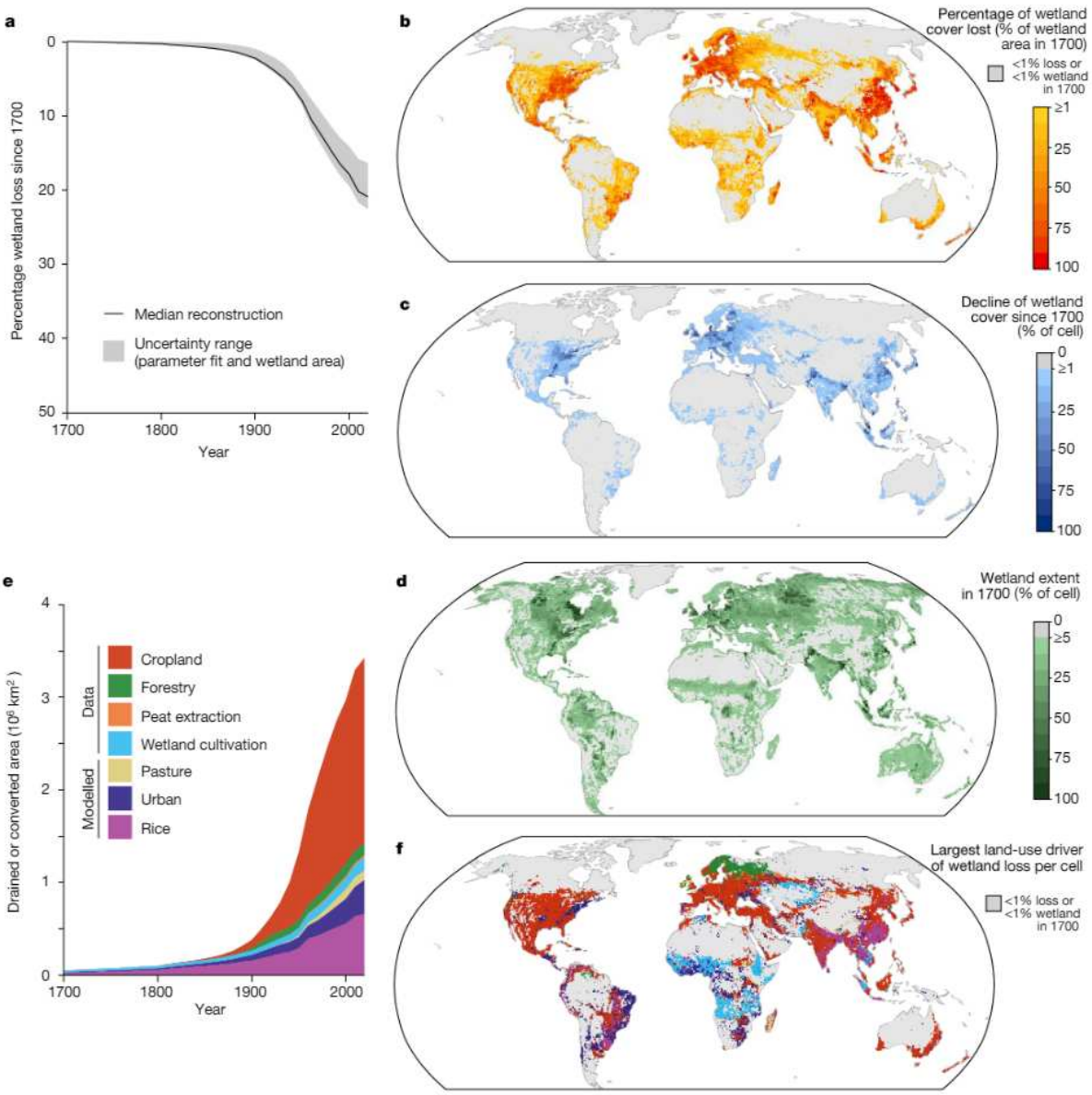


Figure 5. Étendue reconstruite des zones humides drainées, perdues ou converties entre 1700 et 2020 dans le monde.

A, Le pourcentage de la superficie mondiale des zones humides perdues était modeste avant 1900 mais s'est accéléré depuis. La bande d'incertitude (grise) est dérivée de l'ensemble des permutations de paramètres et des cartes de zones humides utilisées pour calculer la perte de zones humides (Méthodes). B, Carte du pourcentage cumulé de perte de zones humides en tant que fraction de la couverture des zones humides en 1700. C, Carte de l'étendue du déclin des zones humides, calculée comme la différence de couverture des zones humides entre 1700 et 2020. D, Carte de l'étendue naturelle des zones humides en 1700. E, Cumulatif facteurs de perte de zones humides par classe d'utilisation des terres jusqu'en 2020 ; les terres cultivées et la riziculture sont les principales utilisations des zones humides converties dans le monde. f, Carte de l'utilisation dominante des terres pour les zones humides converties, suivant la légende de e. Source : (Fluet-Chouinard *et al.*, 2023).

1.9. Impacts écologiques du changement global sur les zones humides des régions arides.

Dans les environnements arides où les précipitations sont saisonnières, très variables et significativement inférieures au taux d'évaporation (Loudière and Gourbesville, 2020), les zones humides connaissent des périodes de salinité élevée en raison des conditions d'évaporation élevées et de la variabilité des apports qui permettent de diluer le sel stocké. En raison des impacts de la pression démographique et des changements associés à l'utilisation des zones humides dans les environnements arides, elles connaissent maintenant souvent une extension de périodes de forte salinité et les interactions entre les eaux de surface et les eaux souterraines, qui jouent un rôle important dans l'écologie, sont très dynamiques, à la fois temporellement et spatialement (Jolly *et al.*, 2008; Bates *et al.*). Les eaux souterraines sont généralement à faible salinité avec un impact bénéfique sur l'écologie des zones humides, impact qui peut être diminué pendant les périodes sèches lorsque leurs niveaux baissent, parfois jusqu'à des niveaux interrompant tout apport vers les zones humides (Jolly *et al.*, 2008; Bates *et al.*). Dans les régions semi-arides et arides, l'évapotranspiration potentielle est supérieure aux précipitations la plupart des mois ; les coefficients de ruissellement sont faibles et les événements de ruissellement et de recharge des eaux souterraines sont relativement faibles (Loudière and Gourbesville, 2020). En conséquence, les zones humides ont peu d'approvisionnement en eau produite localement, elles sont alimentées par le ruissellement des eaux souterraines des parties les plus hautes et les plus humides du bassin. Elles sont aussi alimentées par les crues rares des bassins amont. Dans certains cas, l'approvisionnement en eau souterraine peut provenir d'eau fossile dans des aquifères captifs (Jolly *et al.*, 2008). Ce type de zones humides ont généralement moins d'écoulement d'eau que d'apport. Les cours d'eau qui alimentent et drainent les zones humides, ainsi que les zones humides elles-mêmes, drainent souvent l'eau dans les eaux souterraines. Dans les régions semi-arides et arides les ressources en eau sont ainsi généralement dominées par les eaux souterraines plutôt que par les eaux de surface.

Cependant, le ruissellement des zones humides des régions arides vers les océans peut fournir de l'eau douce pour les lagons côtiers, des sédiments pour la circulation côtière

qui alimente les plages, et des flux de nutriments et de débris pour les écosystèmes marins (Floc'h, 1992).

2. Biodiversité

« Chaque espèce animale et végétale dépend des services fournis par d'autres espèces pour survivre. Plus nous pourrons sauver d'espèces, plus le monde sera en bonne santé ».
Dr James Robinson, directeur de la conservation WWT.

La biodiversité, contraction de diversité biologique, fait référence au nombre, à la variété et à la taille des populations d'espèces vivantes dans leurs divers habitats physiques (Wilson and Lepart, 1997; Alexander, 1999a). Le terme a trois connotations particulières :

La diversité des espèces fait référence à l'ensemble des différentes espèces vivantes actuellement présentes sur Terre dans des habitats particuliers. Cependant, le simple nombre des espèces n'est pas représentatif de la biodiversité, car le niveau de différenciation entre les espèces varie considérablement selon les différents types d'organismes et la biodiversité est plus grande là où les espèces diffèrent le plus fortement les unes des autres. **La diversité génétique** représente la variation des caractéristiques des espèces, représentée par leurs gènes et leurs chromosomes et propagée par la reproduction et la recombinaison. Elle s'exprime extérieurement par des différences dans la forme et la fonction des organismes. Enfin, **la diversité des écosystèmes** (communautés) est caractérisée en termes d'abondance relative des espèces et de différenciation entre elles, La diversité des écosystèmes fait référence à la diversité des assemblages d'espèces et de leurs environnements sur une échelle spécifiée (Alexander, 1999b ; Biodiversity, 1999 ; Malanson and Alftine, 2023).
On mesure la diversité biologique d'un assemblage d'espèces ou d'une communauté à travers plusieurs composantes : La "**richesse**" qui correspond au nombre d'espèces présentes dans un système. L' "**équitabilité**" évalue la distribution relative de ces espèces. Si toutes les espèces sont également représentées, on considère que la répartition est équitable. La "**disparité**" prend en compte la différence entre ces espèces. Par exemple, deux espèces de poissons proches phylogénétiquement pourraient être considérées comme moins différentes que deux espèces appartenant à des familles

distinctes. L'agrégation en termes de biodiversité peut être illustrée par un écosystème comprenant plusieurs habitats. Si l'on évalue la richesse spécifique (le nombre d'espèces) dans chaque habitat distinct, on obtient une mesure de diversité locale (**α**). La comparaison de ces habitats entre eux pour évaluer à quel point ils diffèrent en termes d'espèces représente la diversité entre habitats (**β**). En combinant ces deux niveaux de diversité, on obtient la diversité totale (**γ**) de l'écosystème, permettant ainsi d'avoir une vision globale de la biodiversité dans cet environnement. Cette agrégation de différentes mesures de diversité permet d'avoir une perspective holistique de la biodiversité en tenant compte à la fois de la variété locale et des différences entre habitats.

Selon Loreau et coll. (2001), la diversité des espèces confère aux écosystèmes une robustesse cruciale en les rendant plus résilients aux chocs environnementaux. Cette résilience se manifeste dans de nombreuses dimensions de la biodiversité :

Biodiversité spécifique : A mesure que le nombre d'espèces différentes cohabitant dans un environnement donné augmente (diversité alpha élevée), les chances d'adaptation et de survie des espèces face aux changements (ex : Climatiques) s'accroissent (Tilman et al., 1997).

Biodiversité fonctionnelle : Tous les niveaux de diversité peuvent être utilisés pour percevoir la diversité fonctionnelle. Au niveau alpha, cela se manifeste par les différents rôles que jouent les espèces dans un écosystème particulier. La diversité fonctionnelle illustre comment ces fonctions diffèrent dans divers écosystèmes au niveau bêta. Enfin, à l'échelle gamma, elle considère la diversité fonctionnelle à l'échelle régionale ou mondiale (Diaz *et al.*, 2007; Cadotte *et al.*, 2011)**.**

Biodiversité phylogénétique : La diversité phylogénétique peut être observée principalement à l'échelle gamma, car elle prend en compte les relations évolutives entre les différentes espèces dans un contexte géographique plus vaste. Cependant, elle peut également être étudiée à des échelles alpha et beta pour comprendre comment ces relations évoluent localement et entre différents habitats(Hardy, 2008; Swenson, 2011).

2.1. Biodiversité des zones humides

La récente étude de Fluet-Chouinard *et al.* (2023b) a reconstruit la distribution spatiale des zones humides et estime que 3,4 millions de km^2 de zones humides intérieures ont été perdues, correspondant à une perte nette de 21% de la superficie mondiale des zones humides. Selon les données disponibles au niveau mondial (RamsarGWO_SpecialEdition2021), les espèces dépendantes des zones humides (poissons, oiseaux d'eau ou amphibiens) ont déjà connu une dégradation de leurs populations, et un quart sont menacées d'extinction. Depuis 1970, on constate un déclin de 81% des populations de poissons d'eau douce dans les zones humides intérieures et de 36% des espèces marines et côtières.

Pratiquement tous les taxons dépendant de zones humides côtières et intérieures ayant fait l'objet d'une évaluation sont gravement menacés. Ils représentent plus de 10% des espèces menacées à l'échelle mondiale (RamsarGWO_SpecialEdition2021).

En régions arides les zones humides accueillent près de la moitié des espèces menacés (Rapport NU Environnement/NU-Eau 2018). Les écosystèmes aquatiques en régions arides, particulièrement sur le continent africain, étaient traditionnellement considérés comme moins diversifiés sur le plan biologique. Cependant ces zones, malgré leur sécheresse, représente une niche écologique de beaucoup d'espèces (Zhang *et al.*, 2023). Ces écosystèmes sont aussi le lieu d'origine de toute une variété de plantes médicinales, aromatiques et ornementales ainsi que de certaines plantes halophiles qui pourraient devenir d'importantes plantes cultivées (PNUE/ CDB/SBSTTA, 1999). La plupart des espèces des régions arides résistent très bien à la pression combinée des variations climatiques et du pâturage saisonnier. Elles sont capables de se remettre de sécheresses sévères. La perte de biodiversité dans ces régions est due surtout à la surexploitation des eaux qui est en partie liée à l'expansion de l'agriculture au détriment des terres d'origine (McNeely, 2003; Bogan *et al.*, 2015)

Dans le cadre du développement durable, la biodiversité dans les zones arides commence à recevoir une attention plus spécifique où les discussions concernent essentiellement la conservation des habitats naturels, la préservation de leur diversité et les actions à mener pour éviter l'extinction des espèces (biodiversity-2030-agenda-technical-note,2016).

2.2. Biodiversité des écosystèmes extrêmes

Un écosystème extrême par définition représente un environnement naturel caractérisé par des conditions environnementales hostiles pour la plupart des organismes vivants (**Figure 6**) (Gómez, 2011; Merino *et al.*, 2019), comme des températures et des niveaux de pH élevés ou bas (Belilla *et al.*, 2019), une forte salinité (Ben Abdallah *et al.*, 2020), une pression hydrostatique, des rayonnements ionisants ou encore des concentrations élevées de métaux (Merino *et al.*, 2019). Les procaryotes extrêmophiles, ont développé des formes d'adaptations uniques qui leur permettent de survivre et de prospérer dans ces environnements inhospitaliers (Egamberdieva *et al.*, 2018).

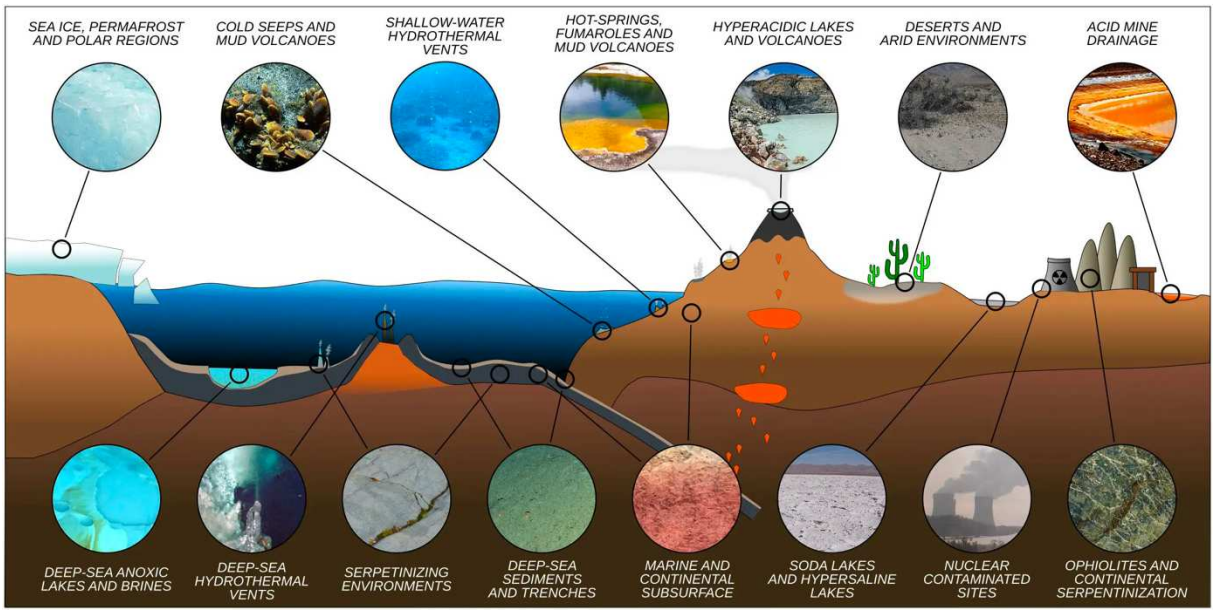


Figure 6. Diversité des environnements extrêmes. Source : (Merino *et al.*, 2019).

- ### Les écosystèmes thermophiles

Les environnements considérés comme habitats thermophiles sont répandus à travers le monde. Ils sont formés principalement par les activités volcaniques et/ou le mouvement des plaques tectoniques et sont généralement influencés par l'activité géothermique comme les geysers et les fumerolles des zones volcaniques continentales ou les cheminées hydrothermales. Les habitats thermophiles se distinguent par des températures régulières supérieures à 45°C (Edwards, 1990; Chénard and Lauro, 2017). Parmi les environnements extrêmement chauds les plus connus et largement étudiés, on peut citer :

les zones géothermiques de Dallol en inde (Belilla *et al.*, 2019) et le plus grand plan d'eau du parc national de Yellowstone Lac Yellowstone (**Figure 7. A&D**).



Figure 7 Images de quelques milieux extrêmes **A :** zone géothermique Dallol en Inde ; B **:** Lac intérieur hypersalé de la mer morte ; **C :** Lac Magadi hyper alcalin ; **D :** Lac Yellowstone**.** Source : (google. Image).

- ## Les écosystèmes alcalins

Les écosystèmes alcalins sont des habitats naturels très rares dans lesquels le pH est supérieur à 9 (Gómez, 2011). Les organismes qui y vivent sont appelés alcaliphiles (De Boeck *et al.*, 2019). On retrouve notamment parmi ce type de site le lac de soude de Magadi (**Figure 7.C**).

- ## Les écosystèmes hypersalins

Les écosystèmes hypersalins naturels ou artificiels se caractérisent par des concentrations en sel deux fois supérieures à celles de l'eau de mer qui est de 35 $g.L^{-1}$ (Edwards, 1990; Oren, 2015). Environ 25% des terres disponibles sur Terre se présentent sous forme de dépôts salins (Dalmaso *et al.*, 2015). Selon la concentration en sel optimale, seuls les organismes halophiles peuvent s'adapter voir prospérer dans ces écosystèmes (Oren, 2015). Parmi les environnements hypersalins les plus connus, on retrouve le lac intérieur de la mer morte (**Figure 7.B**) qui est sujet à une très importante évaporation d'eau due au climat aride. Sa salinité dépasse 340 $g.L^{-1}$ (Jacob *et al.*, 2017).

2.3. Les organismes extrêmophiles

Le terme « Extrêmophile » a été utilisé pour la première fois en 1974 par RD MacElroy qui a publié quelques commentaires sur l'évolution des extrémophiles (Gómez, 2011).

Le terme extrêmophile désigne tout être vivant capable de vivre dans un écosystème extrême. Il existe une grande diversité d'extrêmophiles. Ils englobent les trois domaines de la vie (eucaryotes, procaryotes : bactéries et archée) (**Figure 8**). Leur classification est principalement basée sur les propriétés extrêmes, caractéristiques des écosystèmes dans lesquels ils vivent (Rampelotto, 2013). Les organismes vivant capables de survivre a des paramètres extrêmes combinés sont nommé « polyextrêmophiles » (**Tableau 4**).

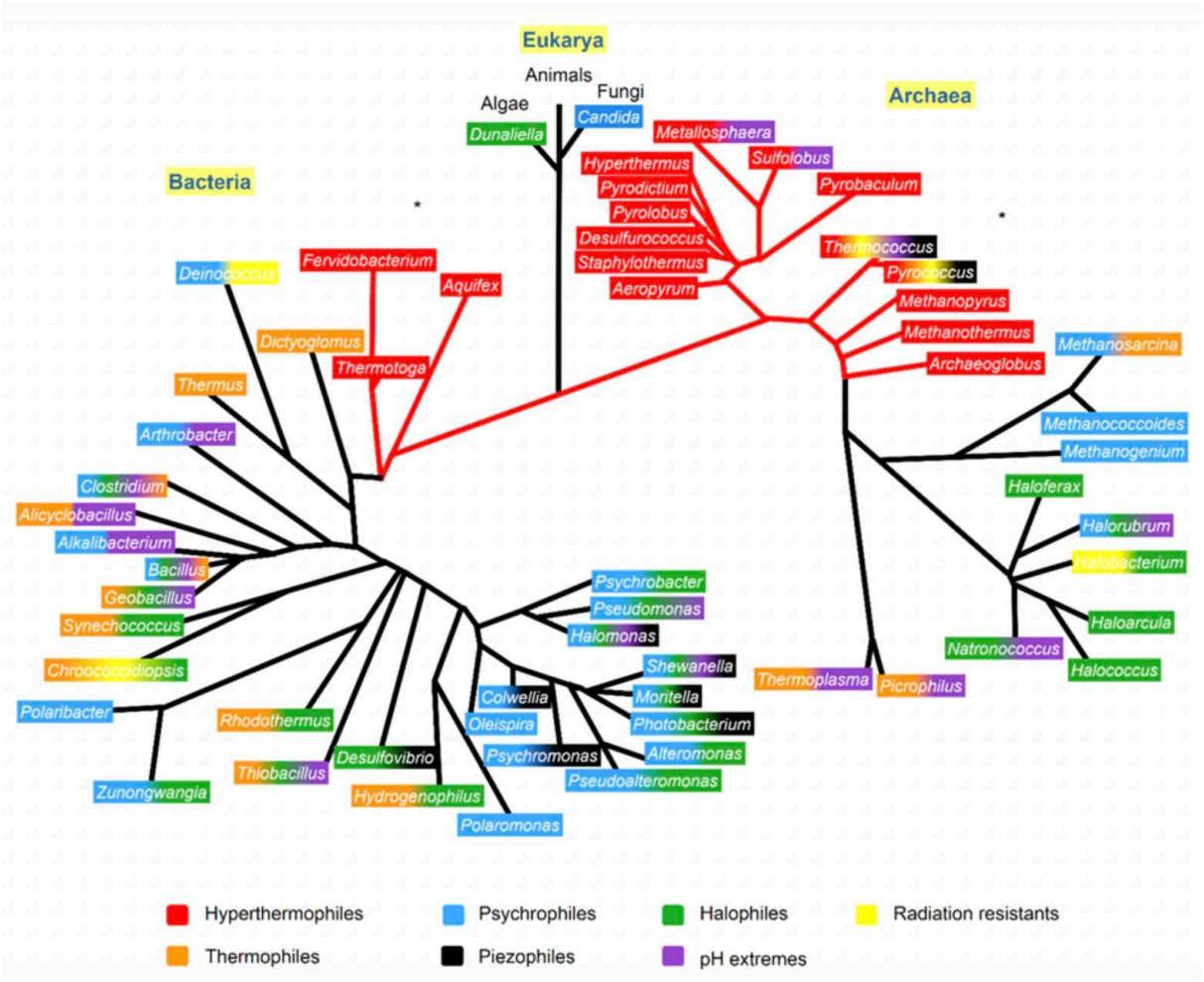


Figure 8. Arbre phylogénétique montrant les extrémophiles et les caractéristiques de résistance qui apparaissent chez au moins une espèce de chaque genre, identifiés par le code couleur (Dalmaso et al., 2015).

Tableau 4. Les limites de vie des microorganismes polyextrêmophiles en culture pure (Egamberdieva *et al.*, 2018).

Souche	Domaine	Type	Ecosystem	(°C)	pH	NaCl (%)
***Picrophilus oshimae* KAW 2/2**	*Archaea*	Hypercid ophile	Hot springs, Solfataras	47–65 (60)	**-0.06** –1.8 (-0.7)	0–20
***Serpentinomonas* sp. B1**	*Bacteria*	Alkaliphil e	Serpentiniz ig system (water)	18–37(30)	9–**12.5** (11)	0–0.5 (0)
***Methanopyrus kandleri* 116**	*Archaea*	Hyperthe rmo-phile	Deep-sea hydrother mal vent	90–**122** (105)	(6.3–6.6)	0.5–4.5 (3.0)
***Planococcus halocryophilus* Or1**	*Bacteria*	Halopsyc hrophile	Sea ice core	**-15–**37 (25)	6–11 (7–8)	0–19 (2)
***Halarsenatibacter silvermanii* SLAS-1**	*Bacteria*	Haloalkal iphile	Soda lake	28–55 (44)	8.7–9.8 (9.4)	20–35 (**35**)
***Thermococcus piezophilus* CDGS**	*Archaea*	Piezother mophile	Deep-sea hydrother mal vent	60–95 (75)	5.5–9 (6)	2–6 (3)
Haloarchaeal strains GN-2 and GN-5	*Archaea*	Xerophile	Solar salterns (brine)	nr	nr	nr

Les extrêmophiles, principalement des microorganismes, se distinguent en six grandes catégories (Berlemont and Gerday, 2011) : les psychrophiles vivant dans des températures bien en dessous du point de congélation de l'eau ; les piézophiles tolérant des pressions allant jusqu'à 1 000 atm ; les acidophiles s'épanouissant à un pH parfois proche de zéro ; les thermophiles vivant des milieux chauds ; les alcaliphiles vivant dans des milieux alcalins ; les halophiles vivant dans des milieux salins.
Nous rencontrerons dans cette thèse ces trois dernières variétés d'espèces extrêmophiles.

- # Les thermophiles

Afin de déterminer les organismes vivants thermophiles, les scientifiques se basent sur leur température optimale de croissance qui est comprise entre 42 et 100°C ou plus (Stetter, 2011). Selon l'étude de Berenguer (2011), les organismes vivant à des températures supérieures à 80°C sont considérés comme des hyper thermophiles (Edwards, 1990 ; Berenguer, 2011; Rampelotto, 2013).
Ce groupe d'organismes vivants est surtout connu pour produire l'enzyme Taq polymérase qui est utilisée dans le cadre de la technique de réaction de polymérisation

en chaîne (PCR), un processus largement employé dans les laboratoires pour amplifier l'ADN (Rainey and Oren, 2006). En termes de physiologie, les thermophiles ont souvent une tolérance plus élevée pour d'autres facteurs de stress environnementaux, tels que des concentrations élevées en sel ou des niveaux de pH bas (Belilla *et al.*, 2019).
Certains thermophiles utilisent des substances soufrées en tant que source d'énergie, d'où parfois leur présence dans les sources d'eau thermale riche en soufre (Cayol *et al.*, 2012).

- **Les alcaliphiles**

Les alcaliphiles sont des organismes qui se développent dans des environnements hautement alcalins (Horikoshi, 1999). Cependant on confond parfois les alcaliphiles et les alcalitolérants. Par définition, les alcaliphiles sont incapables de vivre à un pH égal ou inférieur à 7. Ils possèdent une croissance optimale à pH 9 et peuvent survivre à un pH 10. Par contre, les alcalitolérants représentent les organismes qui peuvent croitre et/ou survivre à un pH au-dessus de 10 mais ont un optimal de croissance autour d'un pH neutre (Edwards, 1990; Rampelotto, 2013).

- **Les halophiles**

Les halophiles sont considérés comme le type d'extrémophiles capables de survivre à des conditions de salinité extrêmes, voire même proches des niveaux de saturation (Oren, 2008, 2015). Les halophiles sont définis comme des micro-organismes ayant une croissance optimale à des concentrations de NaCl supérieures à 0,2 M. Selon leurs besoins en sel, les halophiles sont classés en trois groupes : légèrement halophiles (0,34 à 0,85 M de sel), halophiles modérés (0,85 à 3,4 M de sel) et hyperhalophiles (3,4 à 5,1 M de sel). Certains organismes, comme les eubactéries, sont considérés comme halotolérants, car ils ne dépendent pas du sel pour leur croissance mais peuvent en supporter des concentrations importantes (Edwards, 1990; Berlemont and Gerday, 2011; Rampelotto, 2013).

2.4. Mécanisme d'adaptation des extrêmophiles et leurs applications

La méthode d'adaptation des extrêmophiles à ces environnements extrêmes repose sur des modifications à la fois structurelles et biochimiques (Berlemont and Gerday, 2011; Orellana *et al.*, 2018a) : structurelles par le développement d'une paroi cellulaire plus épaisse protégeant leur structure interne des dommages dus au stress osmotique ; biochimiques par le développement d'enzymes stables en condition de salinité élevée, leur permettant de fonctionner dans de tels environnements (Orellana *et al.*, 2018a). Cependant l'étude de Wai Liew *et al.* (2007) a montré que la bactérie alcaliphile *Bacillus pseudofirmus* possède des gènes qui codent des protéines impliquées dans la régulation du pH intracellulaire et des pompes à protons.

2.4.1. Chez les thermophiles

L'un des mécanismes des thermophiles pour protéger leurs composants cellulaires à haute température est l'adaptation des protéines thermophiles **(Figure 9)**, par le biais de modifications des acides aminés dans leur structure primaire, augmentant ainsi leur stabilité thermique (Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018) et de maintenir une structure spatiale (bi-mais surtout tri-dimensionnelle) fonctionnelle.

Méthodes d'adaptation des thermophiles :

- Les thermophiles ont une longueur plus courte d'acides aminés, possèdent des protéines thermophiles qui se caractérisent par une plus grande fraction de résidus d'acides aminés (chaine polypeptidique spécifiques tels que la leucine ou valine) dans les structures des hélices α (forme secondaire des protéines) (Urbieta *et al.*, 2015; Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018).
- Les thermophiles, ont des protéines de choc thermique (HSPs), notamment les chaperons (DnaK, GroEL et GroES), dont leur rôle est d'assister le repliement des autres protéines (Urbieta *et al.*, 2015; Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018).

- Pour la stabilisation des membranes plasmiques, les thermophiles utilisent des acides gras à chaîne ramifiée et des polyamines (par exemple la spermidine) (Urbieta *et al.*, 2015; Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018).
- Les systèmes de réparation de l'ADN (par exemple, SOSsystem) sont également actifs pour répondre aux dommages à l'ADN causés par la chaleur (Urbieta *et al.*, 2015 ; Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018).
- Un autre mécanisme d'adaptation des thermophiles est l'utilisation de solutés compatibles pour stabiliser les composants cellulaires (Urbieta *et al.*, 2015; Orellana *et al.*, 2018a; Xu *et al.*, 2018).

Application

Chez les bactéries et les archées thermophiles et hyperthermophiles, les enzymes présentent un intérêt pour les applications biotechnologiques. De nombreuses ADN polymérases ont été isolées à partir de microorganismes extrêmophiles , brevetées et commercialisées (Terpe, 2013 ; Wang *et al.*, 2022). L'ADN polymérase thermophile la plus connue est la Taq polymérase, isolée de l'eubactérie thermophile *Thermus Aquaticus (Williams, 1991)*. La Taq polymérase a été la première enzyme thermostable utilisée pour la PCR (Lawyer *et al.*, 1989). Elle a remplacé l'ADN polymérase « Klenow » qui provient de la bactérie *Escherichia coli*. En raison de sa sensibilité à la chaleur, l'enzyme « klenow » se dénature aux températures nécessaires aux processus d'amplification, ce qui nécessitait un réapprovisionnement constant d'enzyme à chaque cycle de la PCR. La Taq est devenue l'un des outils les plus importants en biologie moléculaire. Sa température d'élongation optimale est de 75 à 80 °C (Lawyer *et al.*, 1989). L'utilisation de micro-organismes thermophiles permet d'apporter également des solutions biologiques à des processus industriels à haute température de divers domaines tels que le traitement des déchets, la production d'énergie, la production alimentaire et l'industrie chimique. Ils interviennent dans les processus de digestion anaérobie pour décomposer les déchets organiques ou dans la production d'enzymes à haute température utilisées dans l'industrie alimentaire pour accélérer les réactions chimiques. (Gavrilescu, 2010 ; Urbieta et al., 2015).

2.4.2. Chez les alcaliphiles

Les bactéries alcaliphiles possèdent des mécanismes moléculaires pour maintenir le pH cellulaire. Ces mécanismes comprennent l'activation de systèmes symporteur et antiporteur (**Figure 9**) (Krulwich and Guffanti, 1989; Krulwich, 2006; Orellana *et al.*, 2018a).

Méthodes d'adaptation des alcaliphiles :

- Le système antiporteur produit un gradient électrochimique de Na^+ et H^+ en les transportant à travers la membrane cellulaire. Cela produit une différence de charge électronique entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule (Krulwich and Guffanti, 1989 ; Krulwich, 2006 ; Orellana *et al.*, 2018a).
- Le système symporteur permet l'absorption de Na^+ et d'autres solutés dans les cellules (Krulwich and Guffanti, 1989 ; Krulwich, 2006 ; Orellana *et al.*, 2018a).
- Ces systèmes (antiporteurs/symposteurs), permettent l'afflux de protons et de solutés à l'intérieur de la cellule en raison de la modification de la distribution des ions (par exemple Na^+), maintenant l'homéostasie hydrosaline et la stabilité thermodynamique de la cellule (Krulwich and Guffanti, 1989 ; Krulwich, 2006 ; Orellana *et al.*, 2018a).
- Chez les alcaliphiles, la cytochrome c-552 intervient dans l'accumulation d'électrons (e^-) et de protons d'hydrogène H^+ , améliorant ainsi la fonction d'oxydation (terminale) dans le système respiratoire (Matsuno and Yumoto, 2015 ; Orellana *et al.*, 2018a).
- Les transporteurs membranaires sont contrôlés par la signalisation d'un capteur de pH transmembranaire (Krulwich and Guffanti, 1989; Orellana *et al.*, 2018a).

Application

Les micro-organismes alcaliphiles ont été étudiés en tant que nouvelles ressources pour plusieurs applications biotechnologiques. Ces organismes sont notamment utilisés dans le traitement des eaux usées hautement toxiques. comme celles provenant des effluents

textiles, qui se caractérisent par la présence d'une salinité élevé et d'un pH alcalin, ainsi que par la présence de colorants toxiques (Maier *et al.*, 2004; Khalid *et al.*, 2012; Prasad and Rao, 2013). Les alcaliphiles qui ont été isolés de ces environnements hostiles sont explorés comme biocatalyseurs pour le traitement des effluents contenant des colorants (Hou *et al.*, 2017). Parmi ces alcaliphiles la bactérie « *Nesterenkonia lacusekhoensis EMLA3* » a été isolée d'un effluent textile hautement alcalin (pH ~13) ; elle dégrade le colorant azoïque toxique (rouge de méthyle) en présence d'une concentration élevée de sel et de métaux lourds (Nikel ; Chrome et mercure)(Bhattacharya *et al.*, 2017).

Les micro-organismes alcaliphiles ont également été utilisés pour éliminer l'ammoniac des eaux usées salines riches en azote, principalement produites par les raffineries de carburant et les industries d'engrais (Cui *et al.*, 2016; Orellana *et al.*, 2018a).

Ces micro-organismes pourraient aussi être utiles pour l'ingénierie des écosystèmes grâce au potentiel d''oxydation complète de l'ammoniac en nitrate (Lawson and Lücker, 2018 ; Orellana *et al.*, 2018a).

2.4.3. Chez les halophiles

Les micro-organismes halophiles possèdent des propriétés métaboliques, permettant de maintenir plus d'eau dans le cytoplasme que dans leur environnement, évitant ainsi les pertes d'eau. Ils ont développé deux stratégies principales (**Figure 9**). La première stratégie : consiste à maintenir une concentration intracellulaire en sel équivalente à celle de l'environnement, cette stratégie est réalisée par l'absorption du chlorure et du potassium dans les cellules, par des transporteurs membranaires, coordonnant ainsi l'activité de la bactériorhodopsine et de l'ATP synthase.

L'autre stratégie consiste à maintenir une faible concentration de sel intracellulaire, en utilisant des solutés organiques compatibles, tels que la bétaïne ou l'ectoïne. Impliquant ainsi un équilibre de la pression osmotique, cette dernière stratégie ne nécessite pas d'adaptation globale de la machinerie intracellulaire (Margesin and Schinner, 2001; Oren, 2008, 2015; Orellana *et al.*, 2018a).

Application

Les microorganismes halophiles sont très sollicités en biotechnologie. Par ailleurs, ils ont été utilisés depuis plusieurs siècles : dans la conservation et la fermentation des aliments.

Plusieurs souches halophiles ont montré une grande efficacité dans la bioremédiation des milieux salins et des effluents contaminés (**Tableau 5**) (Orellana *et al.*, 2018b). De plus les microorganismes halophiles sont capables de produire du plastique biodégradable (polyhydroxyalcanoate) et des émulsifiants (exopolysaccharides), (Daoud and Ben Ali, 2020).

Figure 9. Mécanismes moléculaires d'adaptation des extrémophiles aux conditions environnementales extrêmes. Source : (Orellana *et al.*, 2018a).

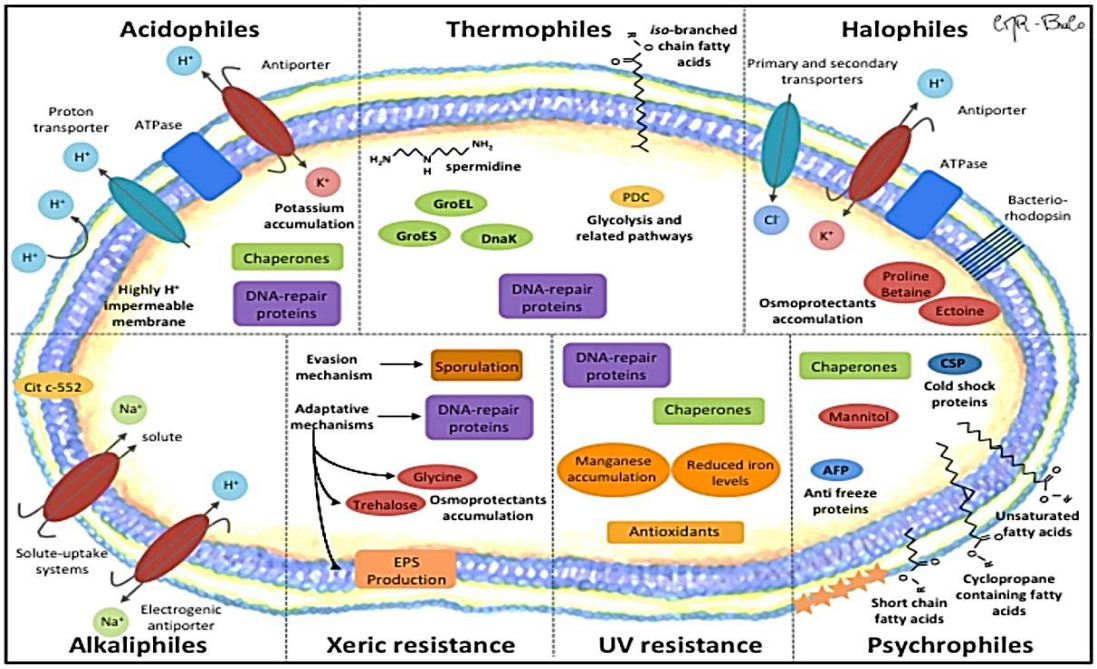


Tableau 5 Quelques exemples d'application en bioremédiation de souches halophiles (Orellana *et al.*, 2018b)

Souche	Numéro Genbank	Habitat	Tolérance en sel (M)	Potentiel bioremediation
Haloferax.sp cl47	HQ438281	Cahul Lagoon	3,4	Dégradation HAP:Naphthalene, anthracene, benzanthracene
Halomonas nitroreducen 11S^T	EF613113	Cahul Lagoon	0,5-3,4	Réduction de Selenite
Exigubacterium sp CGR1	LYTGO1000000	Huasco-Salar	0,4	Résistance a l'Arsenic

3. Estimation de la biodiversité

La diversité biologique présente sur terre est remarquable, elle représente les différentes espèces qui habitent notre planète ; la variété de leurs gènes ; les liens écologiques complexes qu'elles entretiennent entre elles et avec leur environnement, et la variété des écosystèmes qu'elles soutiennent. Cette biodiversité, produit de plus de 3 milliards d'années d'évolution, est un patrimoine naturel inestimable et une ressource dont l'humanité dépend de diverses manières (Marcon, 2018).

Le déclin de la biodiversité représente une crise et un défi majeur pour le 21e siècle (Butchart *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2012) ce défi est en grande partie entravé par le manque de connaissances sur l'état et la répartition de la biodiversité d'autant plus que la majorité des espèces sur terre ne sont pas décrites. Tous les efforts de conservation visant à sauvegarder la biodiversité dépendent essentiellement de la surveillance des espèces et des populations afin d'obtenir des modèles de répartition et des estimations fiables de la taille des populations (Thomsen and Willerslev, 2015).

L'inventaire des taxons peut être réalisée par différentes méthodes qui varient en termes de complexité, allant de l'observation simple à la collecte d'échantillons et à l'analyse de leur ADN en utilisant des techniques plus avancées telles que la métagénomique, le métabarcodage ou le séquençage de nouvelle génération, qui permettent d'identifier les espèces présentes dans un échantillon en utilisant leur ADN (Thomsen and Willerslev, 2015; Faure and Joly, 2016).

L'étude et l'estimation de la biodiversité peut rencontrer parfois des difficultés comme l'échantillonnage de la faune et ou de la flore (micro ou macro).

Les espèces peuvent être difficiles à échantillonner en raison de leur nombre réduit, de leur habitat spécifique ou de leur état de conservation, ce qui rend l'échantillonnage plus compliqué.

Afin d'estimer la biodiversité, des procédures très strictes d'échantillonnage doivent être suivies pour préserver la population et son écosystème d'une part et pour assurer que les résultats soient comparables avec d'autres études (les comparaisons doivent être possibles dans l'espace et dans le temps). Ces recherches ont généralement un coût financier important qui comprend les coûts associés à l'équipement spécialisé, aux visites de sites, à l'analyse d'échantillons, ainsi qu'à la coordination et à la collaboration avec d'autres experts et agences en possession des données. Il est difficile d'évaluer

l'état de conservation, dont des données de base sur l'abondance, la distribution ou d'autres paramètres écologiques sont nécessaires. Cependant, ces données peuvent être limitées ou manquantes pour les espèces rares ou menacées, ce qui peut rendre encore plus difficile la comparaison ou l'évaluation des résultats. Avec l'évolution de la génétique et le développement de la biologie moléculaire les chercheurs se sont tournées vers des méthodes moins invasive utilisant l'ADN environnemental (Thomsen and Willerslev, 2015; Faure and Joly, 2016; François, 2016; Berry *et al.*, 2021; Takahashi *et al.*, 2023a).

3.1. L'ADN environnemental

L'ADN environnemental (ADNe) est défini comme le matériel génomique d'organismes vivants unicellulaires (virus, bactéries ou protistes) et multicellulaires (zooplancton, méiofaune, vertébrés, invertébrés ou plantes) et leurs résidus isolés à partir d'échantillons environnementaux (eau, sédiments, sol, air) (Pawlowski *et al.*, 2020, 2021, 2022). Selon l'étude de Takahashi *et al.* (2023a), les techniques de séquençage de nouvelle génération utilisées dans l'analyse de l'ADN environnemental permettent de détecter une large gamme d'espèces, y compris celles à faible présence (discrètes ou rares) et celles qui sont difficiles à identifier morphologiquement. Dans ce cadre, l'identification est réalisée à partir de l'ADN présent dans l'environnement. Les échantillons d'ADN environnemental peuvent être prélevés à grande échelle, ce qui permet d'obtenir des informations ponctuelles ou temporelles sur la biodiversité à différents sites simultanément (Barnes and Turner, 2016 ; Takahashi *et al.*, 2023b).
En termes d'application, cette méthode est largement utilisée, comme le montrent les travaux de (Berry *et al.*, 2021) (**Figure 10**). L'ADN environnemental s'avère être un outil pour la surveillance de la pollution (Thomsen and Willerslev, 2015), l'analyse du régime alimentaire (Villsen *et al.*, 2022), la détection des espèces invasives (Jode *et al.*, 2019), ainsi que pour la surveillance des environnements menacés ou extrêmes (Belilla *et al.*, 2019).

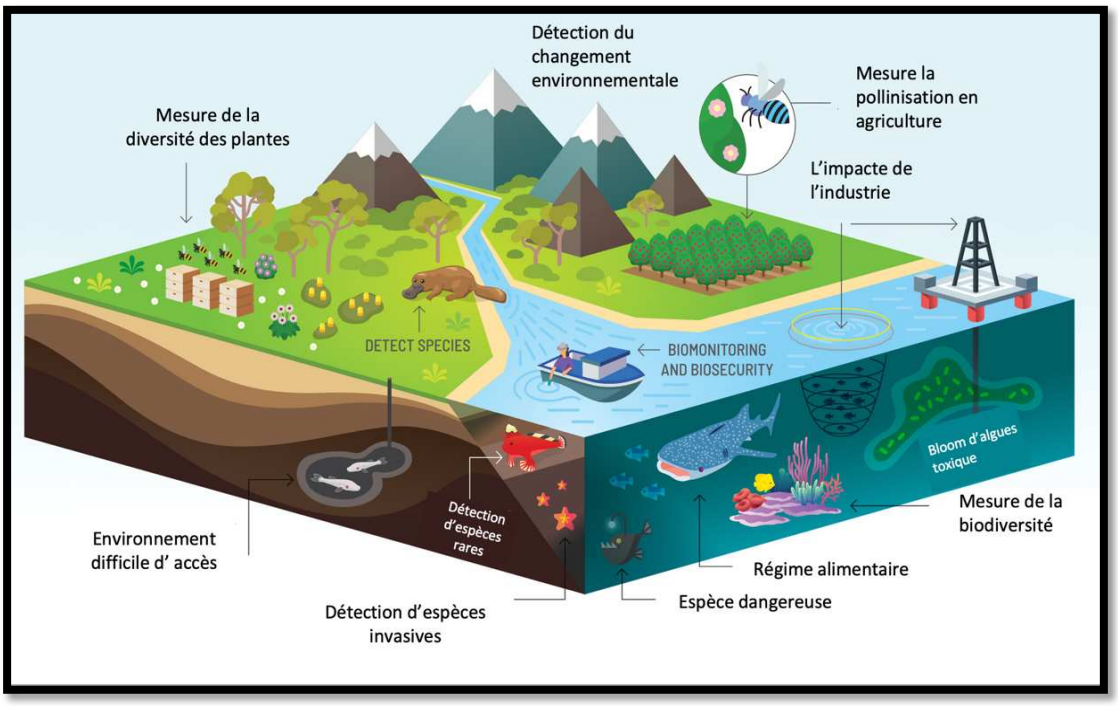


Figure 10. Applications du métabarcodage de l'ADN environnemental dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Source :(Berry *et al.*, 2021) (modifié).

3.2. Caractérisation de la diversité biologique en milieu aquatique par l'ADN environnemental

L'ADN environnemental (ADNe) a connu une évolution remarquable, initialement développée dans les années 1980, pour détecter des bactéries dans les sédiments marins. L'ADNe aquatique a commencé à attirer l'attention au début des années 2000, avec des études sur la pollution fécale dans les systèmes d'eau douce. Les progrès technologiques, notamment le séquençage à haut débit, ont permis la détection des espèces envahissantes en eau douce et la surveillance des mammifères marins (Pawlowski *et al.*, 2020).

L'ADNe a été largement appliqué dans divers écosystèmes aquatiques et terrestres, y compris dans les environnements souterrains, les récifs coraliens et dans les océans profonds. Cette approche révolutionnaire offre de nombreux avantages pour la biosurveillance et permet d'évaluer l'impact des facteurs de stress, qu'ils soient d'origine humaine ou naturelle, sur notre planète (**Figure 11**) (Pawlowski *et al.*, 2020; Takahashi *et al.*, 2023b).

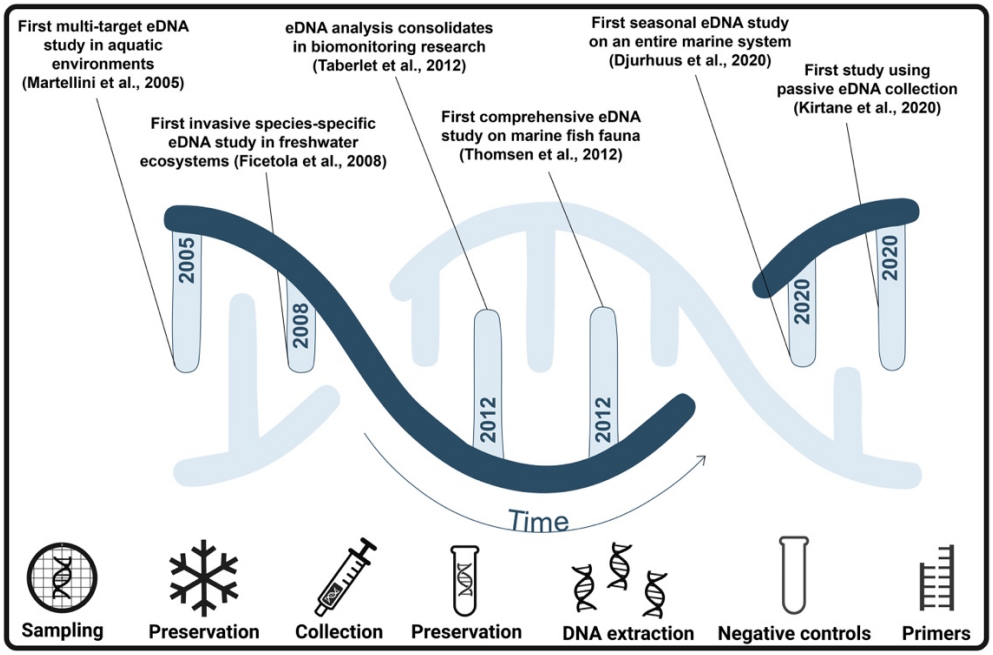


Figure 11. Chronologie de six études clés qui marquent l'histoire de la recherche sur l'ADNe dans les environnements aquatiques. Source : (Takahashi *et al.*, 2023).

L'expansion rapide des méthodes d'ADNe a été accompagnée par le développement de nouvelles techniques d'échantillonnage et de procédures de laboratoire (Takahashi *et al.*, 2023). L'ADNe est devenu un outil puissant pour étudier les écosystèmes aquatiques et terrestres. Son utilisation croissante dans la biosurveillance offre de grandes opportunités, mais nécessite une standardisation et une optimisation continues pour garantir la qualité des résultats et faciliter la comparaison des données à l'échelle mondiale (Takahashi et al., 2023).

4. Site d'étude

4.1. Localisation géographique de la région

La région d'Ain Skhouna est située à 90 km au sud-est de la Wilaya de Saïda et à 530 km du sud-ouest de l'Algérie. Administrativement, la région étudiée est localisée au niveau de la Daïra de Hassasna, Saida, Algérie. Sur les Hautes Plaines Steppiques d'Oran, dans la région Ouest de l'Algérie. La commune de Ain Skhouna est limitée au nord-ouest par El Maamoura Beach, de l'Est-Nord par la wilaya de Tiaret, et du sud par la wilaya d'El Bayadh. Ain Skhouna fait partie du bassin versant du Chott Ech Chergui (27000 km^2) ; a

une superficie de 404,40 km^2 (15% du lac Chott Ech Chergui). Géographiquement, la source d'Ain Skhouna est à 900 m d'altitude. Source libre naturellement, elle a été captée par un forage de 98 m de profondeur après la baisse du niveau de l'eau due à des conditions climatiques de sécheresse (Bouchraki *et al.*, 2016).

4.2. Description du site

Chott Ech Chergui, de la wilaya de Saida, est inscrit sur la Liste des zones humides d'importance internationale (Ramsar site : http://www.ramsar.org) depuis le 02/02/2001 sous le code 34°27'N 000°50'E. Il représente une superficie de 855 500 ha et est considéré comme le deuxième plus grand chott au nord de l'Afrique après le Chott Djerid en Tunisie. C'est une vaste dépression fermée contenant des lacs permanents et saisonniers, constitués d'eaux salées, saumâtres et d'eau douce, ainsi que de sources thermales.

Le site est représentatif de la région méditerranéenne dans la diversité des habitats qu'il inclut : des steppes aux alentours du chott et des « Sebkhas » totalement dépourvus de végétation. Proches des résurgences, une végétation purement aquatique de lacs et de marais est développée. Chott Ech Chergui est un site de nidification et d'hivernage important pour plusieurs espèces d'oiseaux d'eau migrateurs. Selon l'étude de Benkhettou Abdelkader *et al* (2022), le Chott Ech Chergui se distingue par une diversité floristique constituée de 138 taxa (35 familles et 98 genres), avec prédominance de thérophytes (48%), de chaméphytes (25%) et d'hémicryptophytes (18%). Parmi les espèces de plantes Pyrus *ghabiana*, est endémique de la région étudiée. De plus, neuf espèces sont endémiques d'Afrique du Nord. Les utilisations humaines comprennent l'agriculture et l'élevage du bétail, en particulier des moutons, des vaches et des dromadaires. Les sources thermales offrent des possibilités de tourisme (**Annexe A**). Le surpâturage, la surexploitation de l'eau et l'urbanisation sont considérés comme des menaces potentielles (Site Ramsar : http://www.ramsar.org).

III. Méthodologie de la recherche

1. Échantillonnage

Chott Ech Chergui présente plusieurs conditions environnementales contrastées, notamment des sources thermales, de l'eau douce et de l'eau salée. Les analyses physicochimique et microbiologique, ont été réalisées sur des emplacements caractérisés par une disponibilité régulière de l'eau et une accessibilité. Ainsi sept sites d'échantillonnage d'eau représentatifs ont été retenus à proximité de la principale source thermale de Chott Ech Chergui (**Figure12** ; **Tableau 6**). Tous les sites d'échantillonnage et les données cartographiques ont été géoréférencés à l'aide du GPS mobile GARMIN GPSmap 62. La cartographie a été générée à l'aide du logiciel de cartographie ArcGis 10.1 et la superposition d'images dans Google earth Pro 7.3.

Des campagnes d'échantillonnage ont été menées mensuellement pendant un an, de décembre 2018 à novembre 2019. Sur chaque site, des échantillons d'eau et de sédiments ont été prélevés en trois réplicats à une profondeur maximale de 10 cm et dans des conditions aseptiques, à l'aide de bouteilles stériles en verre opaque, de 2,5 L pour les eaux de surface et de 50 mL pour les sédiments. Les échantillons ont été conservés à 4°C jusqu'à l'analyse en laboratoire. Les échantillons d'eau ont été filtrés par des filtres stériles ayant des pores de 0,22 µm de diamètre (Whatman) avant d'être analysés chimiquement (sauf les matières en suspension et la turbidité).

Pour le métabarcodage, un total de 207 échantillons d'eau et 144 échantillons de sédiments ont été prélevés. Chaque mois, les échantillons de sédiments prélevés ont été regroupés dans des conditions stériles pour former un échantillon par site. Soit un total de 48 échantillons. Les échantillons d'eau prélevés sur le même site et à la même date ont été filtrés sous vide dans une hotte microbiologique à l'aide du même type de filtre stérile de 0,22 µm (Wattman), les 69 filtres obtenus ont été stockés à -80°C.

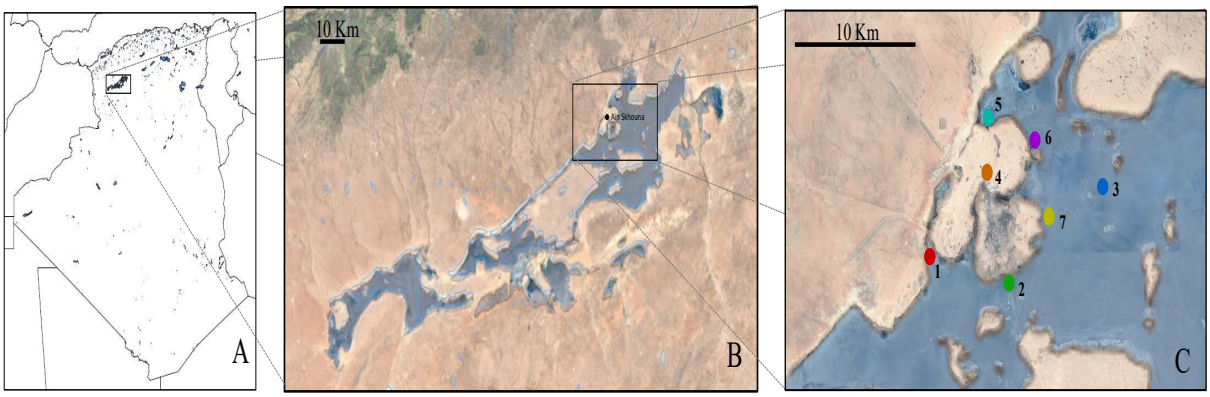


Figure 12. Localisation géographique du chott Ech Chergui et des sites de prélèvement près d'Ain Skhouna. Carte du réseau hydrologique algérien (A). Représentation de la zone humide du Chott Ech Chergui (B). Localisation des sites d'étude (C) : Source Zawia :Hot-Spring-1 (Site N°1), Chott Ech Chergui :Chott (Site N°2), Large-Sebkha :L-Sebkha (SiteN°3), Source Ain Skhouna :Hot-Spring-2(SiteN°4), Basin (Site N°5), Small sebkha :S-Sebkha(Site N°6) et Oued (Site N°7).

Tableau 6. Caractéristiques des sites d'échantillonnage de la zone humide du Chott Ech Chergui.

Site	Name	Habitat	Sub networks	Latitude	Longitude	Brief description
N°1	Hot-Spring-1	HotSpring	1	34°28'2.21"N	0°49'7.93'' E	Premier point principal de la source thermale du Chott Ech Chergui.
N°2	Chott	Confluence	1	34°30'0.96 ''N	0°50'39.88''E	Grande dépression d'eau douce.
N°3	Large-Sebkha	Hypersaline	1	34°27'13.80"N	0°50'33.21"E	Grande dépression aride au sol salé alimentée par la première source thermale et les eaux de pluie.
N°4	Hot-Spring-2	HotSpring	2	34°30'8.14 ''N	0°50'44.50''E	Deuxième source thermale et deuxième point d'alimentation du Chott Ech Chergui.
N°5	Basin	Confluence	2	34°30'0.96 ''N	0°50'39.88''E	Début d'une rivière alimentée par la deuxième source thermale.
N°6	Small-Sebkha	Salin-Alkalin	2	34°29'42.12 ''N	0°50'54.36''E	Bassin alimenté par la deuxième source thermale et les eaux de pluie formant un lac saumâtre.
N°7	Oued	/	/	34°29'46.12 ''N	0°53'54.27''E	Point d'alimentation du coté est du Chot Ech Chergui, alimenté par l'eau de la 2ème source thermale.

2. Météorologie et hydrodynamique

Les données météorologiques ont été obtenues à partir du site Web (https://dz.freemeteo.com/). Les relevés de précipitations (mm) ont été utilisées pour calculer les précipitations mensuelles et annuelles. La température minimale et maximale de l'air (°C) par jour a été utilisée pour les statistiques descriptives (températures moyennes mensuelles et annuelles, maximales et minimales mensuelles). Un diagramme ombrothermique a été tracé pour déterminer les variations de précipitations et de température au cours de l'année d'échantillonnage. Pour mieux comprendre les caractéristiques climatiques de la région, des indices mensuels et annuels d'aridité ont été déterminés selon la classification de De Martonne (De Martonne, 1926). Pour chaque site et date, la profondeur de l'eau (cm) a été déterminée à l'aide d'un ruban à mesurer.

3. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau

Le pH, la température et la salinité ont été mesurés *in situ* avec les sondes Hanna HI991001, HI93530, HI96822 (0-150 ppm). Dans les sites à salinité élevée, une dilution de 1/10 avec de l'eau MilliQ a été effectuée. L'oxygène dissout et la conductivité ont été mesurés avec les sondes Hanna dédiées aux conditions extrêmes HI9145 et HI99301. La turbidité de l'eau a été déterminée avec un turbidimètre MARTINI Mi415 (0-1000 NTU) dans les 24 heures suivant l'échantillonnage et en utilisant les méthodes décrites dans les manuels techniques Rodier (Rodier *et al.*, 2009, 2016).

Les concentrations d'ammonium, de nitrates, de nitrites et d'orthophosphates ont été déterminées par spectrophotométrie (METERTECH SP8001) en utilisant respectivement les méthodes colorimétriques au bleu d'indophénol, au salicylate de sodium, à la sulfanilamide et au molybdate d'ammonium. La détermination du titre hydrométrique, des teneurs en calcium, magnésium, chlorure et matière organique a été réalisée par la méthode titrimétrique utilisant l'EDTA comme solution titrante. En particulier, la concentration en chlorures a été déterminée avec des nitrates d'argent selon la méthode de Mohr (Labidi, 2020). La concentration en matière organique a été déterminée par la réduction du permanganate de potassium par la matière oxydable dans l'eau.

La minéralisation a été calculée à partir des mesures de conductivité basées sur la table de calcul décrite dans les manuels techniques Rodier. Les teneurs en sulfate et en bicarbonate ont été déterminées au cours des mois de janvier, avril, juillet et octobre par titrage volumétrique (Metrohm 848 Titrino plus, Metrohm). Les teneurs en potassium et en sodium ont été déterminées par spectrophotométrie d'absorption atomique à l'aide du photomètre à flamme PFP7 (Jenway).

Remarque :
Nous avons simultanément analysé les échantillons de sédiments par mesure du pH à l'aide d'un pH mètre (Analyseur d'eau PCE-228SLUR), la salinité par la mesure de la conductivité électrique à l'aide du conductimètre Hanna HI99301, et la matière sèche par pesage avant et après séchage dans un dessiccateur à température ambiante. La quantité de matière sèche a été obtenue en soustrayant les deux valeurs de poids. Ces mesures ont été effectuées à chaque saison.

4. Cultures microbiologiques et isolement

Après des tests sur plusieurs milieux de culture, l'Agar nutritif (AN) a été choisi pour isoler les différents types d'extrémophiles tout en assurant la rentabilité des futures recherches en biotechnologies. L'isolement bactérien a été réalisé en utilisant une méthode de dilution en série jusqu'à 10^{-3} en solution saline stérile à 0,85% suivie d'une étape d'enrichissement en bouillon nutritif (Elazzazy et al 2015), Le pH du bouillon nutritif a été ajusté à 7, sauf pour l'isolement des alcaliphiles, pour lequel le pH a été ajusté à 11. Pour l'isolement des bactéries halophiles, une concentration de NaCl de 250 $g.L^{-1}$a été utilisée. Les bouillons nutritifs ont été répartis dans des tubes et stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Après stérilisation, les tubes des bouillons nutritifs ont été inoculés avec un gramme de sédiment échantillonné ou un millilitre d'eau échantillonnée, ainsi qu'avec chaque dilution en série préalablement réalisée à partir de la solution mère (1 g de sédiment ou 1 ml d'eau échantillonnée). Chaque échantillon a été répliqué cinq fois pour assurer une bonne représentativité des résultats.

Les enrichissements de culture ont été incubés à 35°C pendant une période de 48 heures pour les alcaliphiles, une semaine pour les halophiles et 48 h à 65°C pour les thermophiles. Des dilutions en série et ensemencements en stries sur des pentes de gélose nutritive ont été utilisées pour purifier les cultures. Les isolats bactériens ont été maintenus sur des géloses inclinées et en bouillons avec une solution de glycérol à 40 % et stocké à -80°C.

5. Caractérisation physico-chimique d'isolats bactériens

Des méthodes standard de bactériologie ont été utilisées pour identifier les souches isolées (Bergey, 1994, Collins et al, 1995). L'approche microscopique combinée aux méthodes de coloration de Gram et de spores a été utilisée pour vérifier la pureté des isolats et pour décrire les caractéristiques phénotypiques des cellules bactériennes. Dans l'objectif d'examiner l'halotolérance, la croissance bactérienne a été testée à différentes concentrations de sel grâce à une supplémentation en NaCl de 1%, allant de 0% à 30% (P/V). Pour examiner la thermotolérance, la croissance bactérienne a été évaluée entre 4°C et 120°C avec des intervalles de 3°C. Pour examiner la tolérance au pH, la croissance bactérienne a été testée à différents pH entre pH = 3 et pH = 12 avec des intervalles de pH=1. Chaque isolat bactérien a été soumis aux tests biochimiques suivants : production de l'enzyme amylase, lipase, citrate réductase, nitrate réductase, catalase, oxydase ; production d'acétoïne, gaz et d'H2S ; utilisation du mannitol, glucose, galactose, fructose. Leur mobilité et leur type respiratoire ont aussi été déterminés. La capacité des souches à synthétiser les enzymes a été testée dans des conditions appropriées de la gamme optimale de sel, de température et de pH pour chaque souche (**Annexe B**).

6. Caractérisation phylogénétique des isolats bactériens

Les cellules des réplicas de cultures ont été concentrées par centrifugation à 1 500 g pendant 20 min, puis les culots ont été suspendus dans 200 mL de tampon Tris EDTA (Tris 10 mM, EDTA 1 mM pH 8) additionné de 50 mL de solution de lysozyme (80 mg/mL)

et incubé à 37°C pendant 4 h. La suspension a ensuite été broyée avec des billes de verre pendant 90 s à 30 Hz dans le mini-Bead beater et centrifugée pendant 30 s à 11 000 g. Le surnageant a été recueilli dans des tubes de 2 mL et le culot a été lavé dans 250 mL de **TE** avant d'être broyé et centrifugé une fois de plus. Le nouveau surnageant a été combiné avec le 1er extrait. Un volume de 30 µl de RNAse (10 mg/mL) a été ajouté au surnageant obtenu. Le mélange a ensuite été incubé à 50°C pendant 1h30. Une étape de lyse cellulaire a été réalisée en ajoutant 25 µl de tampon de lyse 2X (1 % SDS, 20 mM NaCl, 20 mM Tris pH 8, 20 mM **EDTA**) et 2,5 µl de protéinase K (20 mg/mL), suivi d'une incubation à 50°C pendant 2 h. L'ADN a ensuite été précipité avec de l'acétate de sodium et de l'éthanol (0,1 V d'acétate de sodium 3 M pH = 8 et 3 V d'éthanol à 100% à -20 °C). Après une nuit d'incubation à -20°C, le mélange a été centrifugé à 16 000 g pendant 20 min à 4°C. Le surnageant a été jeté et le culot a été rincé avec 100 µL d'éthanol à 70% à-20 °C puis agité à la main quatre fois avant centrifugation à 16 000 g pendant 20 min à 4°C. Le surnageant a été jeté. Le culot contenant l'ADN a été séché. Après évaporation totale de l'éthanol, il a été resuspendu dans 50 µL de tampon Tris-EDTA. Le dosage des acides nucléiques et les tests de pureté ont été effectués à l'aide du spectrophotomètre UV-visible Thermo Scientific™ NanoDrop™.

L'amplification par PCR de l'ADNr 16S bactérien a été réalisée en utilisant l'amorce sens 16S 27F : AGAGTTTGATCMTGGCTCAG modifiée de l'amorce Fd1 (Winker et Woese 1991) et l'amorce antisens 16S 1547 Rd1 : AAGGAGGTGATCCAGCC (Winker et Woese 1991).

Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume de 50 µl, comprenant 0,2 mM de chaque dNTP (PCR nucléotide Mix, Promega), 0,1 µM de chaque amorce, 5 µl de tampon 10X, 0,025 U/µL de l'enzyme DreamTaq DNA polymerase (ThermoScientific). L'ADN génomique matrice d'une quantité variant de 10 pg à 1 µg a été ajouté au mélange réactionnel. Après une dénaturation initiale à 95°C pendant 2 minutes, 40 cycles ont été réalisés. Ils sont constitués d'une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, suivie d'une hybridation à 55°C pendant 30 secondes et d'une élongation à 72°C pendant 1 minute. Le programme de PCR se termine par une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes. Les amplicons ont été visualisés après électrophorèse sur gel d'agarose (2 %) et coloration à l'éthidium bromure sous une lumière UV à trans-illuminateur (Molecular Imager® Gel Doc™). Des amplicons de ~1500nt ont été séquencés par Sanger (Eurofins Genomics©).

Les séquences d'ADNr 16S ont été corrigées manuellement sur le programme BioEdit (Hall *et al.,* 2011) sur la base d'un examen visuel du chromatogramme. Les séquences de requête d'ADNr 16S ont ensuite été soumises à la base de données Genbank via le National Center for Biotechnology Information (NCBI). La plupart des séquences de référence similaires ont été récupérées à l'aide du programme BLAST et ont été associées à nos nouvelles séquences Sanger pour la reconstruction phylogénétique à l'aide du logiciel Mega X (Kumar et al. 2018). Les séquences de requête et de référence ont été alignées à l'aide du programme CLUSTALW (Thompson et al. 2003). Les arbres phylogénétiques ont été reconstruits en utilisant la méthode de vraisemblance composite maximale (the maximum composite likelihood method) (Saitou et Nei 1987). Un test de bootstrap (500 répétitions) a été réalisé pour calculer le pourcentage d'arbres de répétition dans lesquels les taxons associés se regroupaient, et les distances évolutives ont été calculées à l'aide de la méthode de vraisemblance composite maximale (Tamura et al. 2004).

7. Culture des microalgues et isolement

7.1. Identification morphologique des taxons observés au niveau des échantillons d'eau du Chott Ech Chergui

Lors des expéditions mensuelles, des prélèvements d'eau de 50 ml ont été réalisés, dont certains ont été fixés in situ avec une solution de Lugol à 2% en vue d'observations microscopiques et d'identifications morphologiques en utilisant la clé d'identification (Carmelo R. Tomas,1997).

7.2. Criblage, isolement et purification de microalgues capable de tolérer des concentrations élevées d'éléments métalliques (Cadmium et Cuivre)

Simultanément, d'autres échantillons ont été prélevés sans fixation, puis dilués pour procéder à l'isolement, à la purification, et à la culture dans le milieu F/2-Guillard (Guillard and Ryther, 1962; Asfouri *et al.*, 2017). Ces cultures ont été ensuite exposées à

des concentrations en éléments métalliques. Une souche a été sélectionnée pour évaluer sa capacité à tolérer le cuivre sous forme de Sulfate de cuivre ($CuSO_4$) et le cadmium sous forme de chlorures de cadmium ($CdCl_2$) avec des concentrations variantes, excédant les seuils de contamination du port d'Oran, s'étendant de 0,5 à 2 mg/L, avec des intervalles de 0,5 mg/L.

Les cultures ont été soumis à conditions de culture incluent une intensité lumineuse maintenue à 50 µmol de photons m^2s^{-1}. Une température régulée à (20±1°C), une agitation par un mélange gazeux d'air contenant du CO_2 atmosphérique. La croissance des cultures a été évaluée quotidiennement pendant 12 jours par comptage cellulaire en utilisant la cellule de Malassez (Asfouri *et al.*, 2017), avec conservation d'aliquotes pour des dosages ultérieurs.

8. Extraction d'ADN environnemental

L'ADN total a été extrait de 0,5 g de sédiment et du filtre Watman de chaque échantillon, à l'aide du kit Nucleospin® Soil (MachereyNagel), en suivant les recommandations du fabricant.

Chaque série d'extraction avait un maximum de 21 échantillons environnementaux d'ADN (Dont 20 échantillons du site d'étude et 1 échantillon externe d'eau de mer), un témoin d'extraction négatif (TNe) et un témoin d'aérosol négatif (TNa). Avant chaque série d'extraction, chaque témoin négatif était rempli d'eau sans nucléases, le témoin d'aérosols était ouvert sur la paillasse pendant toute la partie expérimentale d'extraction d'ADN et le témoin d'extraction a subi toutes les étapes de l'extraction tout comme les échantillons environnementaux (Corse *et al.,* 2017). La mesure de la concentration d'ADN en (ng/ul) et le rapport d'absorbance de pureté (A260/A280) ont été déterminés à l'aide de NanoDrop™ One (Ozyme).

9. Préparation de la bibliothèque d'amplicons et séquençage basé sur illumina

A des fins d'amplification après ajustement de la concentration d'acide nucléique à 20 ng/µL, une microplaque de 96 puits contiendra trois séries d'extractions d'ADNe et un témoin positifs, également appelés "mocks", représente un type de communauté distincte réparti dans deux puits (**Annexe C**)., De plus il y aura un contrôle négatif d'amplification par PCR "TNpcr", un échantillon de contrôle négatif d'extraction et d'aérosol pour chaque série d'extraction d'ADN (TNa, TNe), ainsi que des échantillons exogènes d'ADN environnemental (TE) répartis en trois puits. Pour former des répliquas techniques. (**Tableau7**).

Tableau 7. Plan de configuration de la plaque d'ADN pour l'analyse métabarcodage.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	**S1**	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	S2	S3	S3	Mocks			
B	**S1**	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	S2	S3	S3	TNaS1			
C	**S1**	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	S2TE	S3	S3	TNeS1			
D	**S1**	S1TE	**S1**	***S2***	***S2***	S3	S3	S3	TNaS2			
E	**S1**	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	S3	S3	S3	TNeS2			
F	**S1**	**S1**	Mocks	***S2***	***S2***	S3	S3	S3TE	TNaS3			
G	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	***S2***	S3	S3	S3	TNeS3			
H	**S1**	**S1**	***S2***	***S2***	***S2***	S3	S3	S3	TNpcr			

S1: 1ère série d'extraction d'ADNe constitué de 21 échantillons

S2: 2ème série d'extraction d'ADNe constitué de 21 échantillons

S3: 3ème série d'extraction d'ADNe constitué de 21 échantillons

TE: Echantillon d'un milieu externe (eau de mer)

Mocks : Témoin positif composé d'un mélange d'ADN d'espèce connue

TNa (S1/S2/S3): Témoin négatif aérosol par série d'extraction

TNe (S1/S2/S3): Témoin négatif d'extraction d'ADN

TNpcr: Témoin négative de pcr

Deux réactions de PCRs consécutives ont été réalisées en triplicata. Cette technique vise à amplifier le fragment de code à barres et à ajouter les amorces de séquençage Illumina au premier amplicon, respectivement (**Figure 13**).

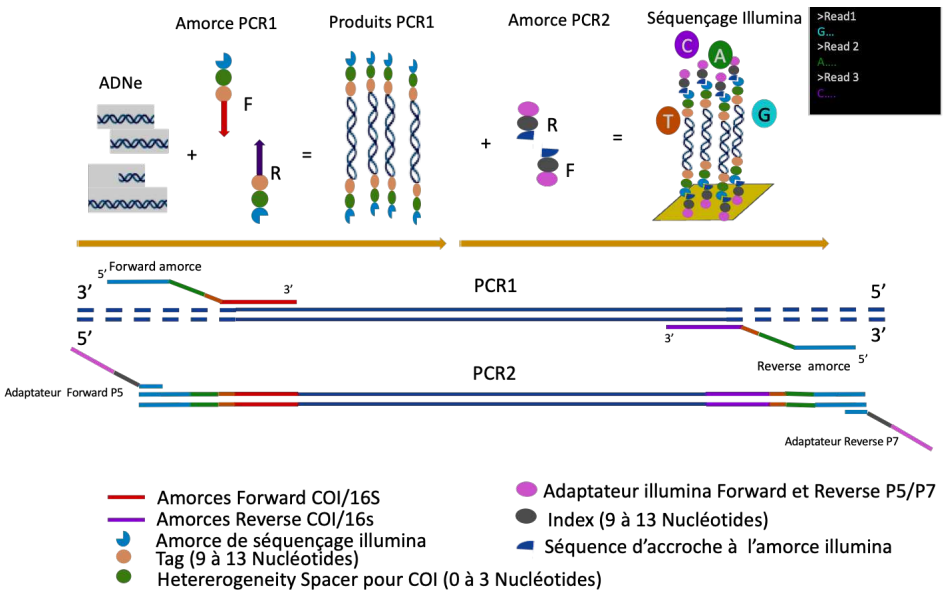


Figure 13. Schéma récapitulatif du processus de préparation de la library pour le métabarcodage et séquençage illumina.

Lors de la première PCR1, les fragments de code à barres ont été amplifiés en utilisant les amorces 515F-Y (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') (Parada et al., 2016)) et 806R-B (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') (Apprill et al., 2015) pour le 16S, et des amorces développées dans le laboratoire IMBE amorce Reverse HBR2d (5'-TAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA-3') et amorce Forward IIICRrevN (3'-GGNTGAACNGTNTAYCCNCC-5') pour le COI (**Annexe C)**.

Chaque amorce spécifique au marqueur était prolongée par de courts tags nucléotidiques (de 9 à 13 nucléotides) en 3' pour permettre l'assignation de chaque lecture de séquençage à un échantillon : la combinaison des tags (forward and reverse) définissait le puits dans la plaque d'extraction d'ADN, donc l'échantillon. Pour le marqueur COI, un espaceur comprenant 0, 1, 2 ou 3 nucléotides inconnus a été inclus à l'extrémité 3' du tag, pour introduire une hétérogénéité de séquence et minimiser la saturation de la puce de séquençage. Enfin, les amorces de séquençage Illumina (amorce forward : 5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG3' et amorce reverse : 3'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG5') ont été ajoutées (**Annexe C**).

La mixture réactionnelle représentait un volume total de 15 µL, composée de 7,5 µL de Qiagen Multiplex Master Mix taq polymérase, 1,5 µL de chacune des amorces (2 µM) et 2 µL d'ADN. Le programme d'amplification appliqué dans un thermocycleur (Eppendorf

MasterPro) nécessitait une étape d'initiation permettant l'activation de la taq polymérase à 95°C pendant 15 min. Une première série de 5 cycles était effectuée comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 sec, une étape d'hybridation des amorces à 45°C pendant 40 sec et une étape d'élongation à 72°C pendant 1 min. Après cette série de cycles, le programme comportait une autre série de 30 cycles, comprenant une étape de dénaturation à 94°C pendant 30 sec, une étape d'hybridation à 48°C pendant 40 sec et une étape d'élongation à 72°C pendant 1 min. Une élongation finale était ensuite appliquée à 72°C pendant 10 min et les amplicons PCR1 étaient conservés à 10°C.

La migration électrophorétique sur gel d'agarose de chaque réplication technique d'une plaque d'amplification a été réalisée. Cette migration a été effectuée pendant 30 minutes à 100 volts sur un gel d'agarose à 2%, avec un tampon TAE à 0,5X, et avec 2 gouttes de bromure d'éthidium (BET) pour obtenir une concentration de 0,5 µg/ml Quatre microlitres (4 µL) du mélange réactionnel, 2 µL de tampon de chargement et 4 µL d'étalon de taille (BenchTop 100bp DNA Ladder, Promega) ont été utilisés. Une analyse des gels à l'aide d'un imager moléculaire (Système Gel Doc™ XR, Bio Rad) a été réalisée pour vérifier l'absence de contamination des témoins négatifs et pour regrouper les échantillons des mêmes répétitions à des concentrations similaires. Les échantillons de la même réplication PCR ont été regroupés dans un tube en fonction de l'intensité des amplicons pour former un "pool": 1 µL pour chaque témoin pour une intensité élevée, 4 µL pour une intensité moyenne à faible et 10 µL pour une intensité très faible. La purification des trois pools de la même plaque d'amplification a été réalisée en utilisant le kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega).

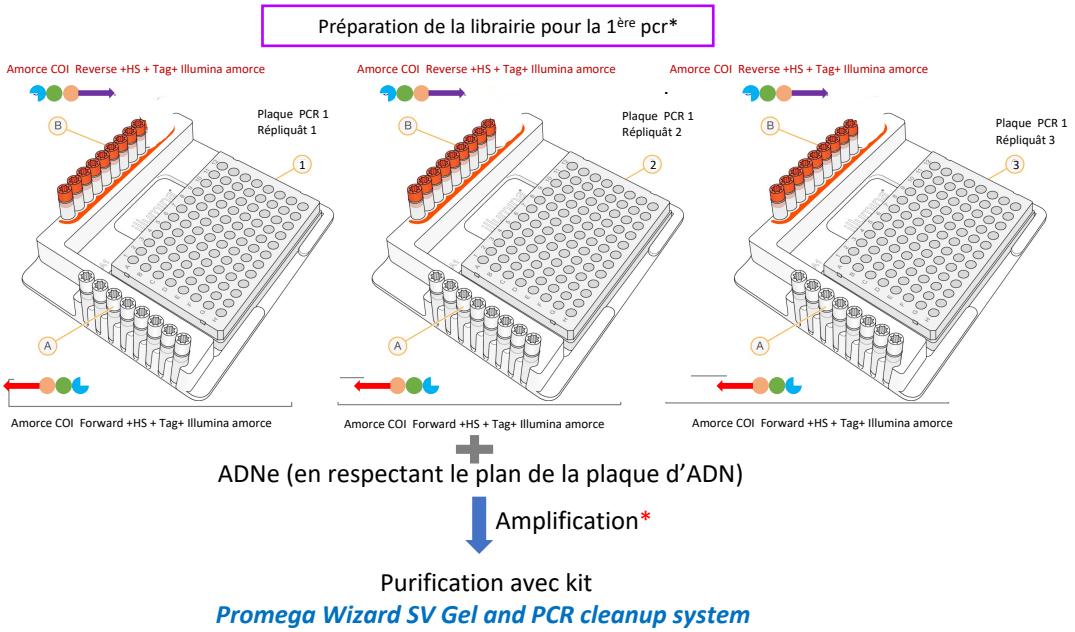


Figure 14. Préparation des réplicas technique à partir du schéma de la plaque d'ADN et étapes de la 1ère PCR.

Lors de la deuxième PCR (**Figure 15**), chacun des pools a été amplifié à nouveau en utilisant des amorces s'hybridant avec les amorces de séquençage et flanquées d'un index Illumina spécifique à une plaque d'amplification, ainsi que de l'adaptateur pour lier l'amplicon à la puce de séquençage (**Annexe C**). Pour chaque pool, le mélange réactionnel représentait un volume total de 60 µL, constitué de 30 µL de la taq polymérase Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (2X), de 2,1 µL de chaque amorce PCR2 (20 µM), de 1,8 µL de DMSO (3%) pour stabiliser les brins d'ADN et pour améliorer l'amplification, et de 6 µL d'ADN provenant du pool (Brandt, 2021). Un témoin négatif de PCR2 a été réalisé pour chacun des pools.

Le programme d'amplification appliqué dans un thermocycleur Eppendorf ™ Mastercycler ™ PRO nécessitait une étape d'initiation permettant l'activation de la Taq polymérase à 98°C pendant 30 secondes, une série de 12 cycles était effectuée comprenant une étape de dénaturation à 98°C pendant 10 secondes, une étape d'hybridation des amorces à 61°C pendant 10 secondes et une étape d'élongation à 72°C pendant 15 secondes. Une élongation finale était ensuite appliquée à 72°C pendant 10 minutes et les amplicons de la deuxième PCR ont été conservés à 10°C. L'isolement des fragments d'intérêt de la longueur correcte à partir de chacun des pools a été réalisé par une deuxième migration électrophorétique sur gel d'agarose et découpe du gel (Corse et

al., 2017). Cette migration a été effectuée pendant 1 heure à 100 V, sur un gel d'agarose à 1,25 %, dans un tampon TAE à 0,5X et en présence de 2 gouttes de bromure d'éthidium (BET) pour obtenir une concentration de 0,5 µg/ml. Un volume des 75 µL d'ADN de chaque pool ou des témoins négatifs de la deuxième PCR, 20 µL de tampon de chargement et 5 µL d'étalon de taille (BenchTop 100bp DNA Ladder, Promega) ont été utilisés.

Une analyse rapide des gels à l'aide d'un imageur moléculaire (Gel Doc™ XR S) a été effectuée pour vérifier l'absence de contamination des témoins négatifs PCR2 et pour réaliser l'isolement des fragments d'intérêt. Une deuxième purification à l'aide du kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) a été réalisée sur les fragments de gel de chaque pool. La taille, la qualité et la concentration des pools ont été vérifiées à l'aide du kit Agilent Bioanalyzer® DNA 100. Pour respecter une charge adéquate de la puce de séquençage, la concentration finale a été ajustée à environ 8,8 nmol. L^{-1}. Les pools ont ensuite été regroupés et envoyés à la plateforme de génotypage/séquençage de l'Institut du Cerveau (Paris, France).

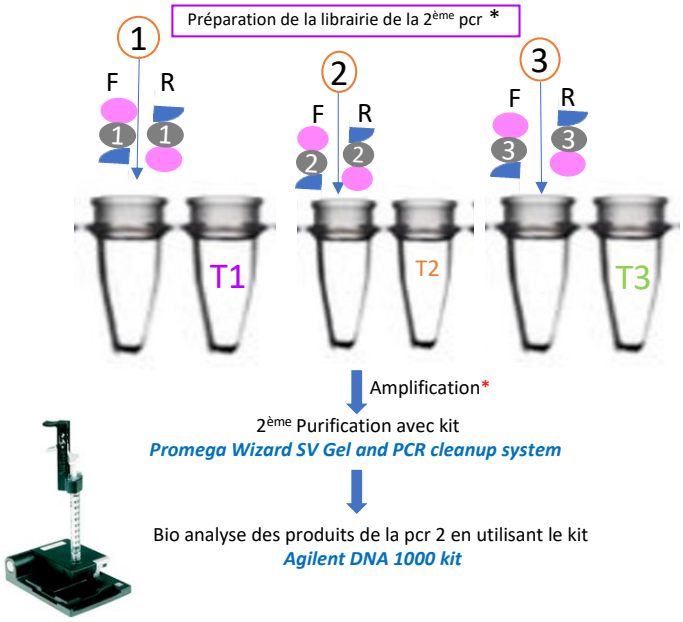


Figure 15. Préparation des pools des réplicat technique de la 1ère PCR et préparation de la librairie de la 2ème PCR avec amplification et purification.

10. Analyses bio-informatiques

Les analyses bio-informatiques des données de métabarcodage ont été réalisées avec VTAM (v0.1.19, Gonzalez et al 2023) en utilisant les paramètres par défaut, sauf indication

contraire. Les paires de lectures ont été soumises à une filtration de base de qualité, fusionnées et élaguées des tags et adaptateurs attribués aux échantillons en utilisant les fonctions merge et sortreads de VTAM. Les lectures ont été dérépliquées en ASV (Variantes de Séquences d'Amplicons, ASV vient de l'anglais : amplicon séquence variant). Chaque ASV a été caractérisé par le nombre de ses lectures dans chaque échantillon.

Afin d'éliminer les artefacts liés à la procédure de métabarcodage, des filtres LFN (FilterMinReplicateNumber) ont été utilisés pour éliminer les occurrences (présence de l'ASV dans un échantillon) avec de basses fréquences. Les erreurs de PCR ont été éliminées à l'aide de FilterPCRerror. La présence d'un ASV a été validée uniquement si elle était présente dans au moins 2 des 3 réplicas techniques. Des réplicas entiers ont été éliminés si leur composition était nettement différente de celle des 2 autres du même échantillon par la commande FilterRenkonen. Pour les marqueurs COI, les pseudogènes potentiels ont été éliminés à l'aide des commandes FiltrIndel et FilterCodonStop.

Les paramètres pour les filtres LFN et FilterPCRerror ont été établis par la fonction d'optimisation basée sur la composition des échantillons témoins (négatifs et simulés) afin de produire un jeu de données avec un minimum de faux négatifs, tout en conservant presque toutes les AVS attendues dans les échantillons simulés. En effet, après la filtration optimisée, seules deux occurrences attendues manquaient dans les communautés simulées du jeu de données COI, tandis que toutes les AVS attendues étaient présentes dans le jeu de données 16S. Le jeu de données 16S avait dix occurrences de faux positifs, tous dus à une seule ASV présente uniquement dans les échantillons témoins négatifs. Étant donné qu'il s'agit clairement d'une contamination externe, les ASV ont été retirées du jeu de données. Le jeu de données COI n'avait que deux occurrences de faux positifs dans les échantillons témoins après la filtration optimisée.

L'assignation taxonomique des séquences COI a été réalisée grâce à la commande taxassign de VTAM en utilisant une base de données intégrée dans le pipeline (disponible à l'adresse https://osf.io/kw9ms), contenant des séquences provenant des bases de données GenBank (NCBI-nt) et BOLD. Il s'agit d'une méthode basée sur la similarité, où le Groupe Taxonomique le Plus Bas (LTG) a été déterminé pour chaque AVS en utilisant des

seuils d'identité décroissants progressivement. La méthode s'arrête lorsque le LTG peut être établi, ou lorsque le pourcentage d'identité atteint 85 % (Mugnai *et al.*, 2023).
Les séquences 16S ont été assignées à des taxons par le classificateur bayésien naïf RDP v-2.11 (Wang et al 2007), en utilisant l'ensemble d'entraînement rDNA No18 disponible à l'adresse https://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/.

Les AVS validées ont été regroupées en utilisant le seuil d'identité de 97 % par l'algorithme cluster_fast implémenté dans vsearch v2.15.1 (Rognes et al 2016). Les clusters ont été considérés comme des Unités Taxonomiques Opérationnelles Moléculaires (mOTU).

11. Analyses statistiques

11.1. Analyses statistiques des données environnementales

Les données physicochimiques ont été analysées à l'aide de JMP 9.0 (SAS Institute Inc.) pour une analyse univariée et Programme PRIMER v7 et (Primer-E Ldt, Plymouth, Royaume-Uni ; Clarke et Gorley 2015) pour analyse multivariée. L'analyse canonique des coordonnées principales a été réalisée à l'aide de la routine CAP du programme PERMANOVA+ (Primer-E Ldt, Plymouth, Royaume-Uni) et la variabilité des données physicochimiques sur les sites d'échantillonnage, capturées sur les valeurs propres de l'analyse canonique CAP1 et CAP2, ont été testées entre paires en utilisant le test t de Student. De plus, la répartition des données représentant les anions et cations caractérisant la composition chimique de l'eau du Chott Ech Chergui a été déterminée selon le schéma de Piper et en utilisant le logiciel Diagram.

Le faciès chimique des eaux de chaque site de prélèvement du Chott Ech Chergui a été illustré à partir des concentrations moyennes de chlorure de calcium, de magnésium, de sodium, potassium, sulfate, bicarbonates et nitrates après leur classification par le Schoeller Berkaloff diagramme à l'aide du logiciel Diagram.

11.2. Analyses statistiques de la diversité des communautés

Les analyses statistiques des données de composition communautaire ont été réalisées à l'aide des logiciels PRIMER v7 et PERMANOVA+ (Primer-E Ltd, Plymouth, Royaume-Uni ; Klark et Gorley 2015). Afin d'analyser **l'alpha-diversité** des communautés microbiennes, nous avons utilisé la routine DIVERSE et calculée **l'indice de Simpson**, exprimé dont une forme courante 1−λ, où λ est une mesure de la probabilité que deux individus choisis au hasard dans un échantillon appartiennent à la même espèce. $d = \sum_{i=1}^{s} \binom{ni(ni-1)}{N(N-1)}$. Où S est le nombre total de mOTUs, ni est le nombre d'individus de la mOTU i dans le site, et N est le nombre total d'individus dans le site.

Pour analyser la **bêta-diversité** des communautés microbiennes, les valeurs d'abondance de chaque mOTU ont été standardisées par rapport à l'abondance totale de l'échantillon, puis log-transformées (Log X+1) avant de générer des matrices de ressemblance **Bray-Curtis**. Pour visualiser la distance entre les échantillons, nous avons utilisé des graphiques **d'ordination de l'analyse des coordonnées principales (PCO)**. Nous avons utilisé la routine **PERMANOVA** et des **tests de Monte Carlo (MC)** pour évaluer les modèles expliquant la dissimilarité entre les échantillons de communauté en fonction des conditions environnementales et tester les effets des facteurs liés au design expérimental (effet site, effet mois, type de milieu sédiment ou eau). Afin de mesurer la contribution des variables prédictives environnementales à la variabilité des mesures de similarité des communautés, nous avons réalisé une analyse de redondance en utilisant la routine **DISTLM**, conformément à la procédure de sélection pas à pas basée sur le critère AIC (critère d'information d'Akaike), mais les analyses ont également été effectuées avec sa version corrigée, l'AICc, (critère d'information d'Akaike corrigé), car elle est moins encline à conserver de nombreuses variables redondantes que l'AIC et en revanche moins contraignante que le BIC (critère d'information bayésien) qui lui retient très peu de variables (Dziak et al., 2020). Pour cette analyse, les variables température, pH, salinité, concentration en orthophosphate, concentration en ammonium, concentration en oxygène ont été choisies comme les plus pertinentes et non corrélées parmi l'ensemble identifié dans l'étude précédente (Mehirou Zouggar *et al.*, 2023).

Pour le marqueur 16S, nous avons utilisé la routine **SIMPER** pour identifier les taxons contribuant à la dissimilarité des communautés à travers les quatre habitats (sources

chaudes (Site N°1 et N°4), site hypersalin (Site N°3), site salin (Site N°6) et les habitats intermédiaires correspondant aux zones de confluence (Site N°2 et N°5) de ces habitats extrêmes).

Pour les taxons identifiés par le marqueur COI au niveau des espèces, nous avons vérifié les informations disponibles sur leur **distribution géographique** en utilisant la base de données en ligne GBIF. **Nous avons développé un script R** pour déduire leurs plages latitudinales et longitudinales et identifier les espèces pour lesquelles la présence à Chott Ech Chergui représente une extension dans au moins l'une de ces plages en utilisant **le package R GeoRange** (Boyle *et al.*, 2017). Pour les eucaryotes, nous souhaitions comparer la proportion de mOTUs COI attribués au niveau des espèces avec celle obtenue dans un autre environnement peu étudié, à savoir l'environnement marin. Pour ce faire, nous avons utilisé un ensemble de données publié (Wangensteen *et al.*, 2018) et effectué une attribution taxonomique selon le même protocole que celui utilisé avec nos données (ce dernier point a été réalisé par Emese Meglécz).

IV. Résultats

1. Météorologie locale et hydrodynamique

Les données métrologiques fournies par la Station Rghuis indiquent que la **température** mensuelle moyenne variait entre **11 et 28°C**. La température la plus **élevée** de la région était de **48°C** en juillet et la température la plus basse était de 0°C en janvier. De grandes variations dans la quantité de **précipitations** ont été observées tout au long de l'année, avec **~ 60 mm** enregistrés en janvier, avril et novembre et ~ 26 mm enregistrés en septembre après une période **estivale** de **sécheresse** de trois mois (**Figure 16-A**). **L'indice d'aridité** affiche **trois pics**, reflétant la dynamique des précipitations tout au long de l'année (**Figure 16-B**). La **profondeur** de l'**eau** a varié en conséquence au cours de l'année d'échantillonnage avec des **valeurs** plus **élevées** mesurées pendant les **périodes pluvieuses** et des valeurs plus **faibles** mesurées pendant la **saison sèche d'été** (**Figure 16-C**). Parmi les sites d'échantillonnage, la **profondeur d'eau** la plus **élevée** (~32 cm) a été mesurée sur les sites N°2 (**Chott**) et N°5 (**Basin**), dans la vaste dépression d'eau douce et au début d'une rivière alimentée par la deuxième source thermale, respectivement ; les valeurs les **plus basses** ont été enregistrées durant les mois les plus secs de **juillet et août**, avec un **assèchement total** au site N°3 (**L-Sebkha**) dans la vaste dépression aride alimentée par la 1ère source thermale et les pluies.

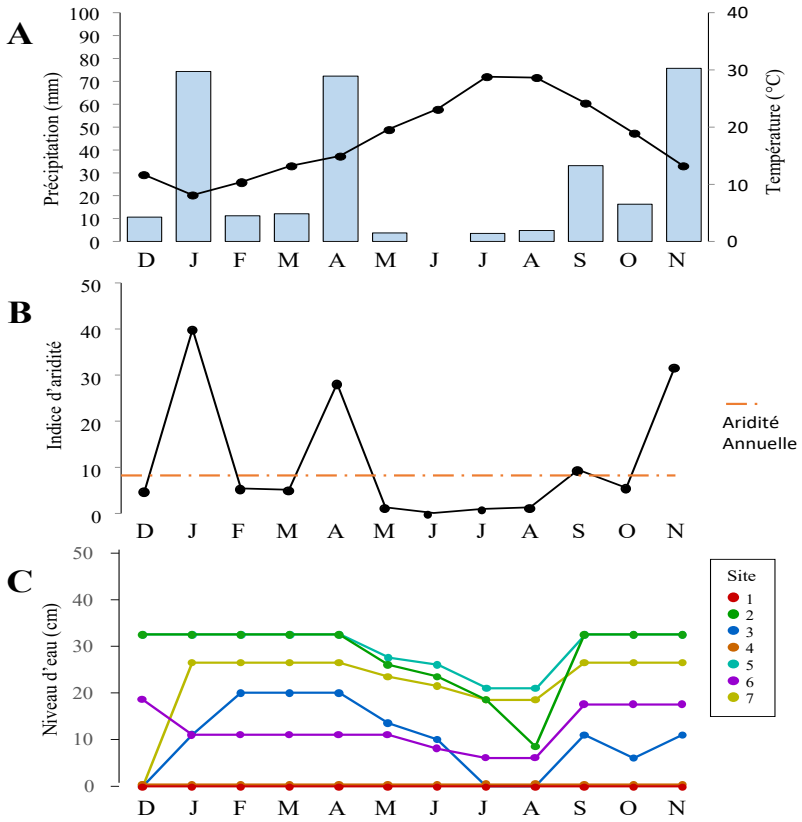


Figure 16. Diagramme ombrothermique de la région d'Ain Skhouna (A). Variation de l'indice d'aridité (B) et variation de la profondeur d'eau à chaque site échantillonné du Chott Ech Chergui (C) au cours de la campagne d'échantillonnage (décembre 2018 à novembre 2019).

2. Variation temporelle de la physicochimie de l'eau

La variation temporelle des paramètres physico-chimiques de l'eau a révélé **trois périodes caractéristiques** (**Figure 17**). A l'**exception** des sites N°1 et N°4 (**Hot springs**) qui sont fortement influencés par les sources thermiques toute l'année, affichant une température moyenne de **~35°C**, atteignant localement **38°C**, **l'hiver et le printemps** ont été marqués par des températures basses atteignant en moyenne **~23°C,** avec des points bas locaux à 10°C, sur tous les autres sites. Ceci était associé à des valeurs de **pH instables** autour de la neutralité (**~7,5**), à une **diminution** de la teneur en oxygène (passant de **~10 à ~7,5** ppm), à une diminution de la teneur en **matière organique** (passant de ~6 mg. L^{-1} en février à ~2 mg. L^{-1} en avril), les valeurs les plus **élevées** de teneur en **magnésium** (**~100** mg. L-1) et tous les autres paramètres étaient à leur niveau le plus bas. De la fin du **printemps au début de l'automne**, la température de l'eau s'élève jusqu'à la valeur maximale qui caractérise en permanence les sites N°1 et N°4 (Hot springs) **(~32°C**), sur

tous les autres sites. Ceci était associé à un **pH alcalin** quasi stable (~8), à une teneur en **oxygène faible** et stable (~7,5 ppm), à des **valeurs croissantes** de la teneur en **matière organique** (atteignant un deuxième pic à ~5 $mg.L^{-1}$ en juin), à la **valeurs** les plus **basses** de la teneur en **magnésium** (~50 $mg.L^{-1}$), **valeurs croissantes** de la teneur en **calcium** et teneurs croissantes en **ammonium** (montant jusqu'à ~0,25 $mg.L^{-1}$ en juin), **nitrates** (montant jusqu'à ~15 $mg.L^{-1}$ en juillet) et les **nitrites** (montant jusqu'à ~0,1 $mg.L^{-1}$ entre juillet et septembre). La **troisième période de l'automne** est marquée par la **baisse** de la **température** de l'eau (jusqu'à ~20°C ; sauf aux sites N°1 et N°4), les valeurs les plus faibles de la teneur en **magnésium** (~50 mg. L^{-1}) et les **valeurs** les plus **élevées** de la teneur en **calcium** (pouvant atteindre ~200 mg. L^{-1} en octobre et novembre).

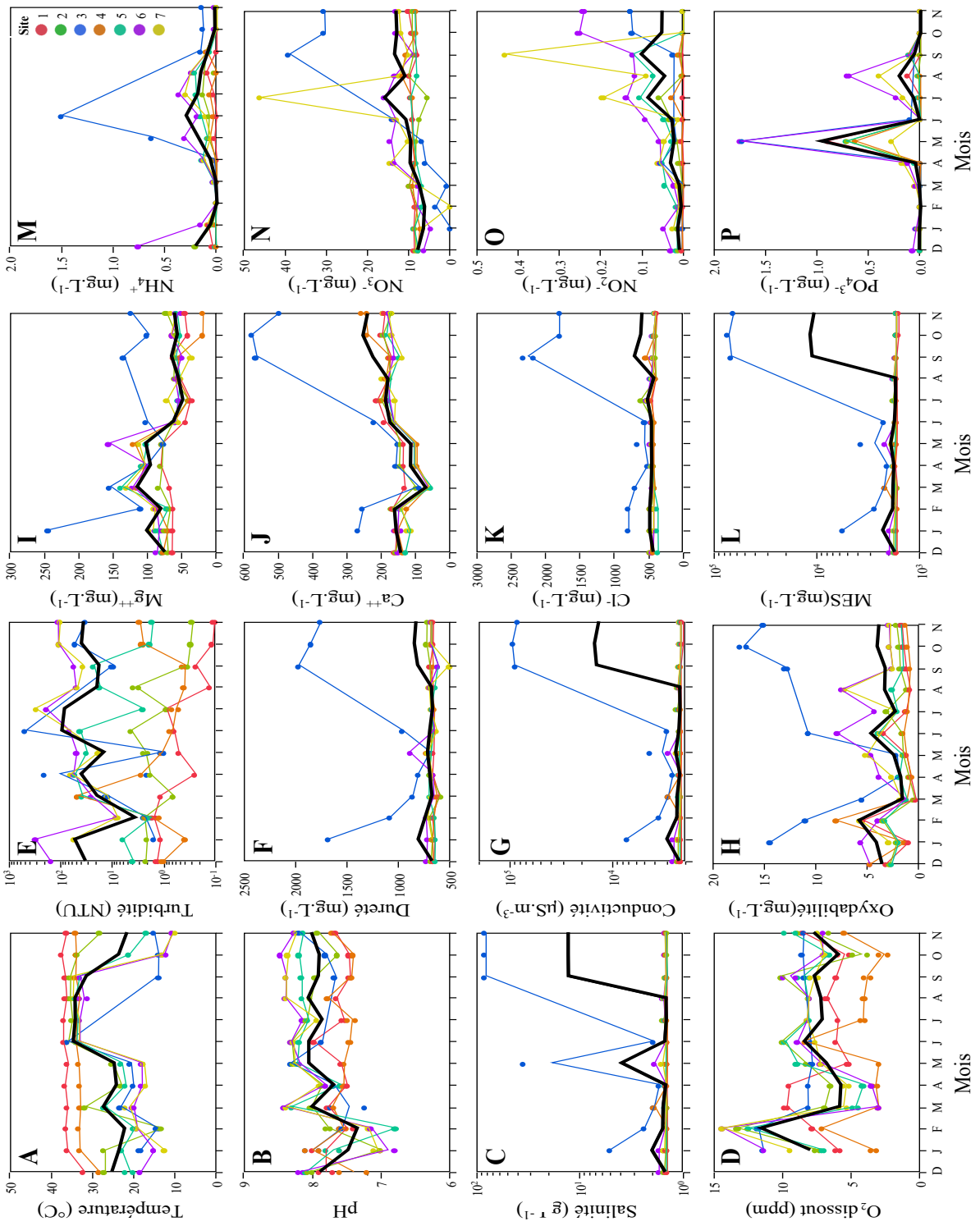


Figure 17. Dynamique des paramètres physico-chimiques de l'eau aux différents sites de prélèvement du Chott Ech Chergui entre décembre 2018 et novembre 2019 : température, A ; pH, B ; salinité, C ; Oxygène dissous, D ; turbidité E ; dureté F ; conductivité, G ; matière organique H ; teneur en magnésium, I ; teneur en calcium, J ; teneur en chlorure, K ; matières en suspension, L ; teneur en ammonium, M : teneur en nitrate, N ; teneur en nitrites, O ; orthophosphates, P. Les lettres majuscules indiquent les mois d'échantillonnage successifs sur l'axe des X. Pour plus de commodité, la légende en couleur des sites est affichée dans le graphique M.

3. Variabilité spatiale des paramètres physico-chimiques de l'eau

Les deux premiers axes de **l'analyse ACP** des **paramètres physico-chimiques de l'eau** ont permis de catégoriser les **sites** de prélèvement en **trois groupes**, montrant leurs conditions environnementales contrastées (**Figure 18**). Le cercle de corrélation superposé résume les variables qui décrivent les facteurs expliquant la variation entre les sites. Les sites (**Hot springs**) N°1 et N°4, correspondant à la source Zaiwa et à la source Ain Skouna, respectivement, sont **caractérisés** par une **température** de l'eau élevée et des **valeurs basses** pour la plupart des **paramètres environnementaux** considérés, ce qui souligne l'**oligotrophie** et la faible **(**oxygénation**)** de l'eau thermale qui remonte de l'eau souterraine. Les **sites** N°5, N°6 et N°7 (**Basin** ; **S-Sebkha** et **Oued**) et dans une moindre mesure le site N°2 (**Chott**), sont **opposés** aux sites N°1 et N°4 (**Hot springs**) suivant **l'axe CAP 1** en partie à **cause** du régime de **température** de l'eau contrasté, mais aussi parce que ces sites présentaient des **valeurs élevées** de pH, de matières en suspension, de nitrites, orthophosphate, turbidité et teneur en oxygène, qui caractérisent ces sites comme étant **eutrophes et alcalins**. Le site N°3(**L-Sebkha**), correspondant à la vaste dépression aride de la Grande Sebkha **opposée** également sur **l'axe CAP 1** aux sites N°1 et N°4 (**Hot springs**). **Mais** le site N°3 **s'oppose** aux sites N°5, N°6, N°7 et N°2 (**Basin ; S-Sebkha ; Oued et Chott**) sur **l'axe CAP 2** car il montre des **valeurs élevées** d'ammonium, de nitrate, de magnésium, de matière organique et de conductivité (**regroupant salinité, dureté, teneur en calcium et teneur en chlorure**). Ce dernier **site N°3** peut donc être qualifié **d'eutrophe et salin**.

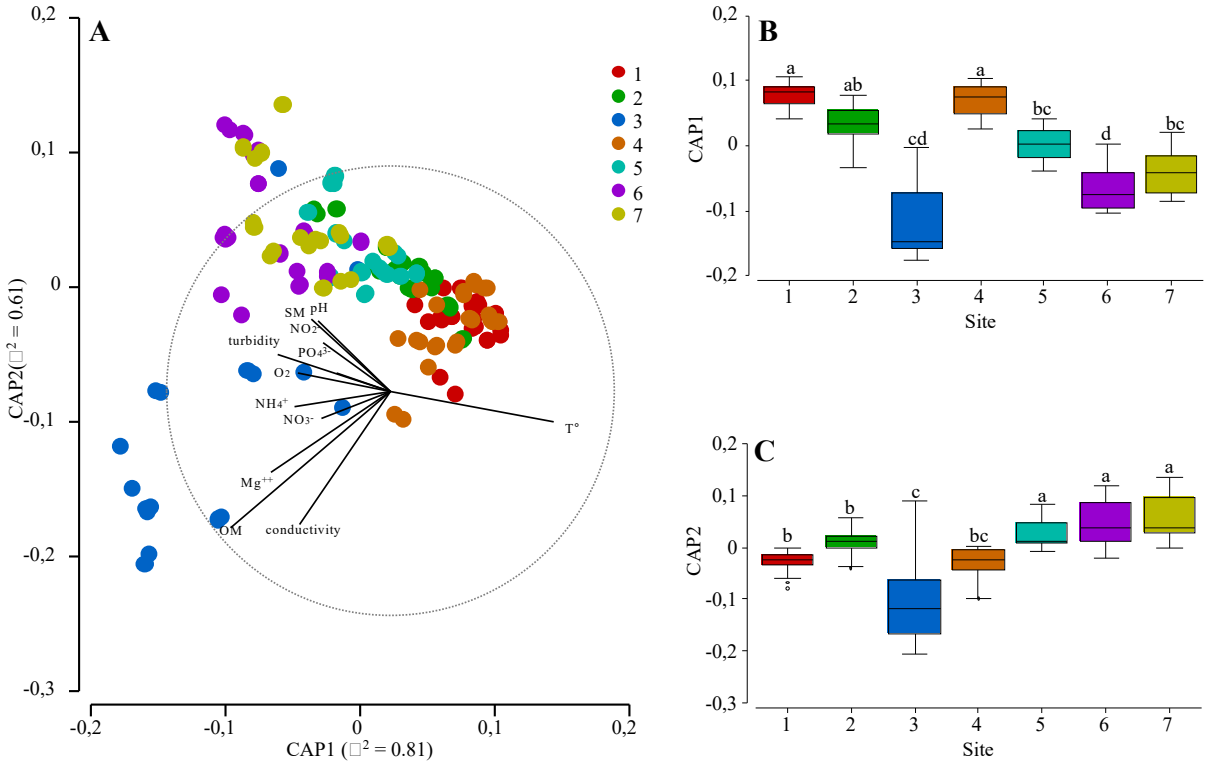


Figure 18. Ordination contrainte à partir de l'analyse canonique des coordonnées principales (analyse CAP) discriminant les différents sites de prélèvement du Chott Ech Chergui selon les paramètres physico-chimiques de l'eau mesurés de décembre 2018 à novembre 2019 (A). Le cercle de corrélation de Pearson superposé montre les vecteurs de corrélations des paramètres physico-chimiques individuels : température (T°), pH, oxygène dissous (O2), turbidité, matière organique (MO), teneur en magnésium (Mg++), matières en suspension (MS), teneur en ammonium (NH4+), teneur en nitrates (NO3-), teneur en nitrites (NO2-), orthophosphates (PO43) et conductivité. Ce dernier vecteur est représentatif de la variation de la salinité, de la dureté, de la teneur en calcium et de la teneur en chlorure, montrant un coefficient de corrélation r>0,84. La comparaison de la variabilité physico-chimique entre les sites d'échantillonnage est présentée sur les deux axes les plus discriminants CAP1 et CAP2 (B et C, respectivement). Les valeurs affectées d'une lettre différente sont significativement différentes

4. Affiliation phylogénétique des isolats bactériens

Suite au **séquençage** des gènes **d'ADNr 16s** et à **l'affiliation phylogénétique** avec des séquences de sujets extraites de la **NCBI GenBank**, **17 isolats** ont été affiliés au **phylum Firmicutes**, classe Bacilli, ordre Bacillales, famille Bacillaceae au sein du genre *Bacillus, Lysinibacillus, Virgibacillus, Geobacillus, Exiguobacterium* et famille Staphylococcacea du genre *Staphylococcus* (**Figure 19A**); **22 isolats** étaient affiliés au **phylum Proteobacteria**, classe gamma-Proteobacteria, ordre Oceanospirillales, famille Halomonadaceae au sein des genres *Chromohalobacter* et *Salinicola* (**Figure 19B**). **Deux isolats** (OM301605 et OM301582) n'avaient **pas d'espèces** identifiées étroitement **apparentées** en raison d'une **faible homologie** de séquence d'**ADN** avec les **séquences** de la **base** de données **NCBI**. L'isolat **OM301582** avait un pourcentage d'identité (**%id**) particulièrement **faible** avec la séquence de référence la plus proche dans la base de données NCBI (**<94%**), ce qui empêche son affiliation formelle au genre *Chromohalobacter*.

La structure de la **diversité bactérienne** des échantillons d'**eau** et de **sédiments** étudiés a révélé des **différences** dans la **structure** de la diversité d'un **biotope** à l'autre. Les bactéries appartenant à la famille **Proteobacteria** ont été isolées des sites N°3 et N°6 (**L-sebkha et S-Sebkha**) et les bactéries appartenant à la famille **Firmicutes** ont été isolées des sites N°1 à N°6 (**Hot-Springs ; Chott ; Basin et S-Sebkha**).

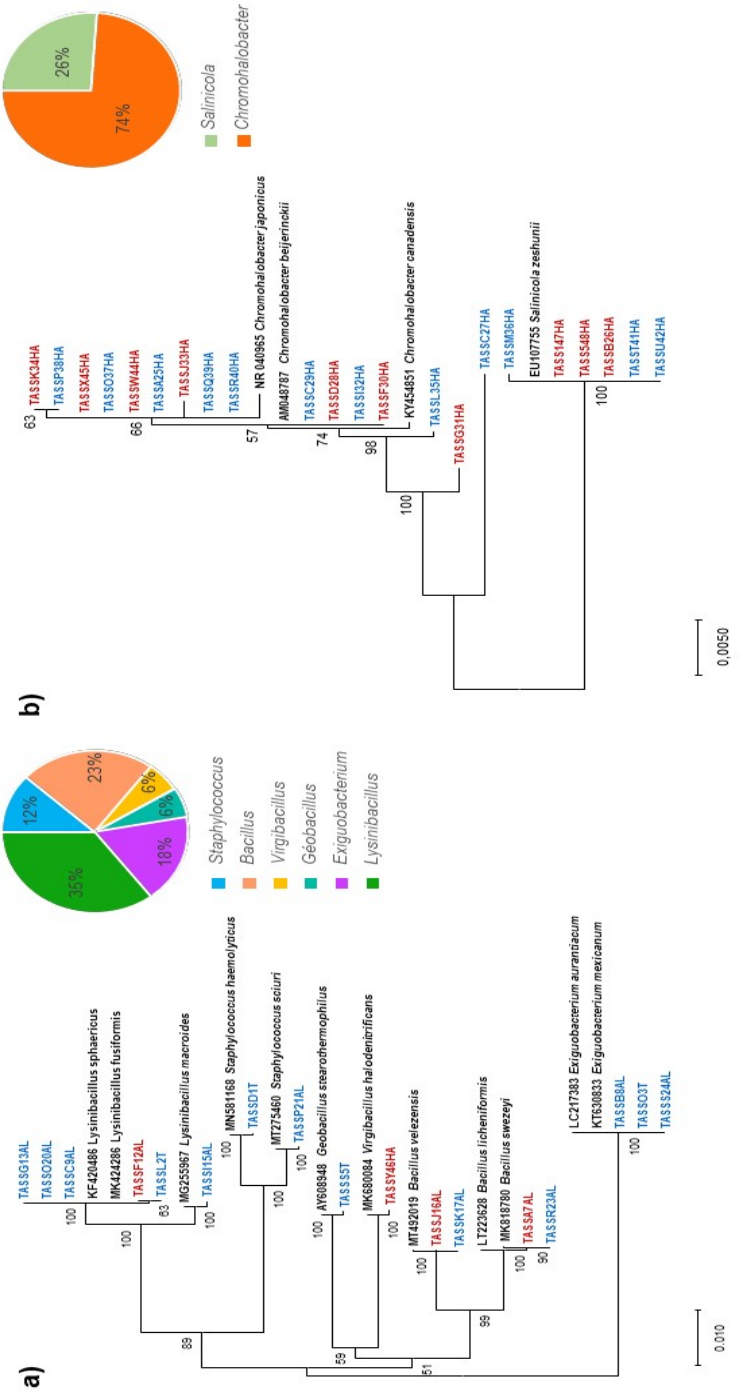


Figure 19. Affiliation taxonomique d'isolats bactériens par reconstruction phylogénétique de leurs séquences d'ADNr 16s et de celles des isolats de firmicutes (A) et des isolats de protéobactéries (B) collectées sur la base de données NCBI GenBank (voir aussi tableau 8.).

5. Caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats extrêmophiles collectés

Les analyses et les **cultures microbiologiques** ont permis d'isoler **39 isolats** de bactéries à partir d'échantillons d'eau et de sédiments (**Tableau 8**). Parmi eux, les **16 isolats** de bactéries affiliées au phylum des **Firmicutes** pouvaient se **développer** en **l'absence de sel**, toutefois ils étaient **capables** de **tolérer** une concentration de **5 à 15 % de NaCl** dans le milieu de culture, ce qui suggère leur capacité à se développer en présence d'une concentration élevée en sel, ceux-ci sont **considérés** comme « **halotolérants** » ; et **23 isolats** de bactéries dont **22** affiliés au phylum **Proteobacteria** et **un** au phylum **Firmicutes** (genre *Virgibacillus*), qui **ne pouvaient** pas **se développer sans sel**, avaient une **exigence minimale de 5%** de teneur en **NaCl** dans le milieu de culture et **pouvaient** encore **se développer** à une concentration plus élevée en sel allant **jusqu'à 30% de NaCl**. ceux-ci sont **considérés** comme « **halophiles** ».

Tous les isolats ont montré la **capacité** de prospérer dans des conditions **acides** et **alcalines**, mais **10 isolats** ne pouvaient supporter qu'une **faible alcalinité** (**pH=9**), tandis que **29 isolats pouvaient** encore prospérer à une **alcalinité élevée** (**jusqu'à pH= 10 et 12**), ceux-ci sont considérés comme « **Alcalitolérants** » et « **Alcaliphiles** », **respectivement**. De même, les **27 isolats** montrant la capacité de **se développer à pH 5** sont considérés comme « **Acidotolérants** ».

Tous les isolats avaient la capacité de se **développer** au-dessus de **45°C** et remarquablement, **un isolat** nécessitait une température élevée pour se développer (allant de 50°C à **100°C**), ceux-ci sont considérés comme "**thermophiles**". À l'opposé, **cinq isolats** ont montré la **capacité** de prospérer dans une large plage de **température** (allant de **4°C à 60°C**), ceux-ci sont considérés comme "**psychro-thermotolérants**".

Le **dépistage des activités enzymatiques** a montré que tous les isolats **exprimaient** leurs **activités** dans **les plages de pH, de sel et de température dans lesquelles ils étaient cultivés**. Sur tous les isolats, **20 isolats** du genre *Chromohalobacter* et *Salinicola* pouvaient **réduire le citrate**, **17 isolats** affiliés au genre *Staphylococcus, Bacillus, Exigubacterium, Chromohalobacter, Salinicola* et *Virgibacillus* **synthétisent l'acétoïne**, **15 isolats** affiliés au genre *Staphylococcus, Lysinibacillus, Exigubacterium, Geobacillus,Bacillus, Chromohalobacter* et *Salinicola* **réduisent les nitrates**, **11 isolats** de

bactéries affiliées au genre *Staphylococcus, Geobacillus, Bacillus, Lysinibacillus* , et *Chromohalobacter* **produisent de la lipase**, et **14 isolats** affiliés au genre *Lysinibacillus, Exigubacterium, Geobacillus* et *Bacillus* **synthétisent de l'amylase**. **32 utilisaient du sucre** (mannose, glucose, fructose) et **11 utilisaient du mannitol** comme principale **source de carbone**. **23 souches** étaient **positives à l'oxydase**, **31** ont une **catalase antioxydante**. La **plupart** des producteurs d'**enzymes** étaient affiliés aux **firmicutes**, et non aux protéobactéries.

Tableau 8. Affiliation Taxonomique et caractérisation phénotypique et biochimique des isolats de bactéries du Chott Ech Chergui.

Isolate code	NCBI Accession	Type/ Site	Date	*Blast Genre*	*Blast espèces*	Ident. %	NCBI ref.	Gram	Ox.	Spor.	Morph.	Resp-cond	Mob.	Lip.	Amy.	Cit.	Man.	Glu	Fru	Lac	Gaz	H_2S	Cat.	Ace.	Nit.	Temp. range °C	NaCl% range	pH range
TASSD1T	OM301585	W-1	25/02/2019	*Staphylococcus*	*haemolyticus*	99,86%	MN581168.1	+	-	+	Coccus	Facultative anaerobes	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	18-60°C	0-15%	6-9
TASSL2T	OM301596	W-4	25/06/2019	*Lysinibacillus*	*fusiformis*	100%	MH788986.1	+	+	+	Rod	Obligate aerobes	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	18-60°C	0-6%	6-10
TASS3T	OM301601	W-1	25/07/2019	*Exiguobacterium*	*aurantiacum*	100%	LC217383.1	+	-	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	4-60°C	0-6%	5-11
TASS5S5T	OM301608	W-4	25/01/2019	*Geobacillus*	*stearothermophilus*	100%	AY608948.1	+	+	+	Rod	Obligate aerobes	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	**50-100°C**	0-5%	5-9
TASSA7AL	OM301579	S-2	25/11/2019	*Bacillus*	*swezeyi*	100%	MK818780.1	+	+	+	Rod	Facultative anaerobes	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	15-60°C	0-12%	6-11
TASSB8AL	OM301581	W-5	25/04/2019	*Exiguobacterium*	*aurantiacum*	100%	LC217383.1	+	-	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	4-60°C	0-6%	5-11
TASSC9AL	OM301584	W-2	25/04/2019	*Lysinibacillus*	*sphaericus*	100%	CP026120.1	+	+	+	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	15-50°C	0-6%	6-11
TASSF12AL	OM301587	S-6	25/08/2019	*Lysinibacillus*	*fusiformis*	99,93%	MH788986.1	+	+	+	Rod	Obligate aerobes	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	18-60°C	0-6%	6-11
TASSG13AL	OM301589	W-2	25/07/2019	*Lysinibacillus*	*sphaericus*	99,93%	CP026120.2	+	+	+	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	16-50°C	0-5%	6-11
TASSI15AL	OM301590	W-4	25/10/2019	*Lysinibacillus*	*macroides*	99,86%	MH542661.1	+	-	+	Rod	Facultative anaerobes	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	16-50°C	0-6%	6-11
TASSJ16AL	OM301592	S-4	25/09/2019	*Bacillus*	*safensis*	99,93%	MT133336.1	+	+	+	Cocobacillus	Facultative anaerobes	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	16-50°C	0-5%	5-11
TASSK17AL	OM301594	W-3	25/05/2019	*Bacillus*	*velezensis*	99,93%	MT492019.2	+	+	+	Rod	Facultative anaerobes	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	**30-50°C**	0-12%	6-11
TASSO20AL	OM301599	S-6	25/04/2019	*Lysinibacillus*	*sphaericus*	99,79%	CP026120.1	+	+	+	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	16-45°C	0-8 %	6-11
TASSP21AL	OM301602	W-5	25/01/2019	*Staphylococcus*	*sciuri*	99,93%	MT275460.1	+	-	-	Coccus	Facultative anaerobes	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	16-45°C	0-5%	6-11
TASSR23AL	OM301605	W-6	25/03/2019	*Bacillus*	***sp***	**99,86%**	GQ407241.1	+	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	15-60°C	0-12%	6-11
TASSS24AL	OM301607	S-6	25/12/2018	*Exiguobacterium*	*mexicanum*	100%	KT630833.1	+	-	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	4-60°C	0-6%	5-11
TASSA25HA	OM301578	W-3	25/04/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,72%	NR_036840.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	5-50°C	**5-25%**	5-11
TASSB26HA	OM301580	S-3	25/01/2019	*Salinicola*	*zeshuniі*	100%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	15-50°C	**5-30%**	5-11
TASSC27HA	OM301582	S-6	25/09/2019	*Chromohalobacter*	***sp***	**93,67%**	AB681757.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	5-50°C	**5-25%**	5-11
TASSD28HA	OM301586	S-3	25/03/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,93%	AM048787.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSC29HA	OM301583	W-6	25/10/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	100%	AM048787.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSF30HA	OM301588	S-3	25/05/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,79%	AM048787.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSG31HA	OM301614	S-6	25/11/2019	*Chromohalobacter*	*canadensis*	99,21%	KY454851.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSH32HA	OM301591	W-3	25/01/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,93%	NR_036840.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-10
TASSJ33HA	OM301593	S-6	25/01/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,72%	NR_036840.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSK34HA	OM301595	S-6	25/05/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,72%	NR_114193.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASS35HA	OM301597	W-6	25/04/2019	*Chromohalobacter*	*beijerinckii*	99,97%	AM048787.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-25%**	**5-12**
TASSM36HA	OM301598	W-6	25/04/2019	*Salinicola*	*zeshuniі*	99,81%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	15-50°C	**5-30%**	5-11
TASS37HA	OM301600	W-3	25/05/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	99,30%	NR_040965.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	15-50°C	**5-30%**	5-11
TASS38HA	OM301603	W-6	25/08/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	99,23%	NR_040965.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	15-50°C	**5-30%**	5-11
TASSQ39HA	OM301604	W-3	25/09/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	99,86%	NR_114193.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	15-50°C	**5-25%**	5-11
TASSR40HA	OM301606	W-3	25/09/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	100%	NR_114193.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	15-50°C	**5-25%**	5-9
TASS41HA	OM301609	W-3	25/11/2019	*Salinicola*	*Zeshuniі*	100%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-30%**	5-9
TASSU42HA	OM301610	W-6	25/06/2019	*Salinicola*	*Zeshuniі*	100%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	15-50°C	**5-30%**	5-9
TASSW44HA	OM301611	S-3	25/07/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	99,86%	NR_114193.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	15-50°C	**5-25%**	5-9
TASS45	OM301612	S-3	25/08/2019	*Chromohalobacter*	*japonicus*	99,86%	NR_114193.1	-	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	15-50°C	**5-30%**	5-9
TASS46	OM301613	S-3	25/09/2019	*Virgibacillus*	*halodenitrificans*	99,86%	MK680084.1	+	+	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**6-30%**	6-9
TASS147HA	OM301576	S-6	25/06/2019	*Salinicola*	*Zeshuniі*	100%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	15-50°C	**5-30%**	5-9
TASS548HA	OM301577	S-6	25/07/2019	*Salinicola*	*Zeshuniі*	99,93%	EU107755.1	-	-	-	Rod	Facultative anaerobes	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	15-50°C	**5-30%**	5-9

6. Identification morphologique des taxons observés au niveau des échantillons d'eau du Chott Ech Chergui

Les résultats issus des **observations microscopiques**, détaillés dans (**Annexe J**), révèlent une **grande diversité** au sein des échantillons étudiés. Ces derniers comprennent des **baccilariophycées**, des **chlorophycées**, des **cyanobactéries**, ainsi que des **parasites.** L'analyse comparative entre les échantillons prélevés montre que les **échantillons** provenant des **sources thermales** et la **grande sebkha** sont presque **stérile**, En revanche, les **échantillons** collectés du **Chott**, du **basin**, et de la **S-sebkha** démontrent une **grande richesse**, notamment pendant le mois d'**avril**, cela est **corrélé** avec la concentration en **matière organique**. Au cours de **périodes sèches** notamment en juin et juillet, on note une **dominance** des **bacillariophycées**. Cette prédominance suggère une corrélation avec la **diminution** du **niveau d'eau**. En effet, les bacillariophycées sont des organismes benthiques, la réduction du niveau d'eau pendant la période sèche pourrait favoriser la prolifération de ces diatomées.

7. Effet de l'exposition de la souche *Scenedesmus sp* aux éléments métalliques (cadmium et cuivre) en fonction du temps

Les résultats préliminaires de l'**exposition** de la souche de microalgues appartenant au genre ***Scenedesmus sp*** aux éléments métalliques (**Cadmium et Cuivre**) ont révélé une remarquable capacité à **tolérer** des concentrations allant **jusqu'à 2 mg. L^{-1}** de cuivre et de cadmium. Peu importe la concentration en éléments métalliques, le démarrage de la phase de croissance est progressif. Après une **phase d'adaptation** de **3 à 5 jours**, une **phase d'accroissement** de la croissance cellulaire est observée, avec des valeurs moyennes de concentration cellulaire variant entre 20.10^5 et 50.10^5 cellules.mL^{-1}. **À partir du 7ème jour**, une **phase exponentielle** se manifeste, se traduisant par une **forte**

croissance qui atteint son **optimum** vers les **10 à 12 jours**, avec des valeurs maximales atteignant 500.10^5 cellules. mL^{-1}(**Annexe J**).

8. Diversité et abondance des jeux de données 16S et COI

8.1. Diversité procaryote en utilisant l'ADNr 16s

Après **toutes** les étapes de **filtration**, nous avons obtenu (**554353**) **lectures** de gènes d'ARNr **16S** de haute qualité, correspondant à (**423**) variants de séquence d'amplicon (**ASV**). Ces variants ont été regroupés en (**261**) **mOTUs**, dont (**256**) étaient affiliés aux **bactéries** et **cinq** aux **archées**. Dans l'ensemble, **la richesse** en mOTUs et les abondances de lectures étaient **plus élevées** dans l'**eau** que dans les échantillons de **sédiments** et ont atteint les valeurs les plus élevées dans l'eau du site N°5 (**Basin**) (**Figure 20 ; Figure 21 ; Annexe F**).

La communauté de **procaryotes** au niveau de Chott Ech Chergui (eau/sédiment) (**Figure 20 ; Annexe F**) appartenait à **13 phylums** différents (**11** phylums de **bactéries** et **deux** phylums d'**archées**). Dans notre ensemble de données de métabarcodage, les **bactéries dominaient** clairement, représentant **99,62 %** de toutes les lectures de la communauté dans les six sites. Les **archées** étaient généralement **rares** ; elles n'ont été trouvées que **dans** des **sites** d'environnements **extrêmes** (SiteN°3 : L-Sebkha et sites N°1 et N°4 : Hot-Spring-1 et 2), tandis que **les bactéries** dominaient dans les **six sites**, appartiennent aux quatre phylums : **Protéobactéries (>50%)**, **Bactéroïdètes (>23%)**, **Actinobactéries** (>4%) et **Verrucomicrobia (>4%w≤)**.

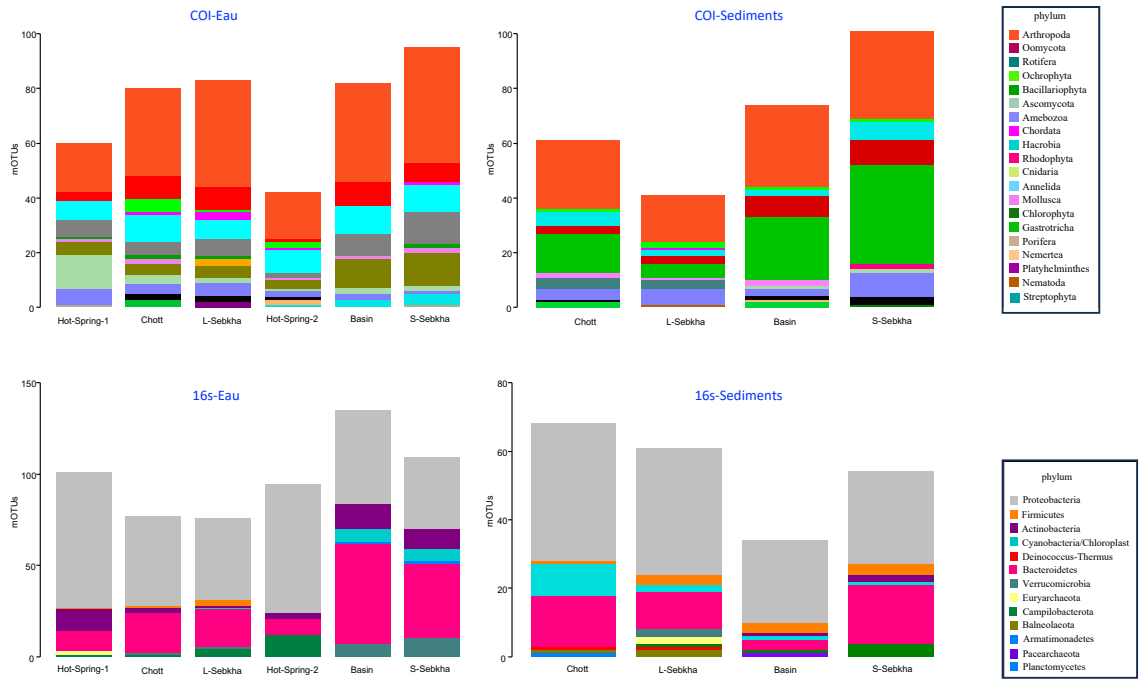


Figure 20. Analyse comparative de la richesse taxonomique dans les environnements sédimentaires et aquatiques obtenue par métabarcodage à l'aide des marqueurs 16S ARNr et COI. Les graphiques à barres pondérées par l'abondance illustrent le nombre d'unités taxonomiques opérationnelles (mOTUs) dans différents sites du Chott Ech Chergui. Les données ont été standardisées en utilisant une transformation en racine carrée avant de générer les graphiques à barres, permettant une visualisation améliorée des phylums à faible abondance. Les barres codées en couleur représentent la composition des phylums, mettant en évidence la diversité de la communauté.

8.2. Diversité des eucaryotes en utilisant le gène cytochrome oxydase COI

En ce qui concerne le jeu de données obtenu par **métabarcodage** du gène **COI**, nous avons réussi à identifier un **nombre moins élevé** d'eucaryotes par rapport aux procaryotes avec le jeu de données 16S (**Annexe F : Figure 21 ; Figure 22**).

La **majorité** des **séquences** n'ont **pas** été **assignées** à un phylum car ne ressemblaient pas à une séquence connue dans les bases de données de référence en se basant sur un minimum de **85%** de similarité : ceci concerne (**36682**) **reads**, c'est-à-dire fragments séquencés correspondaient à (**52**) **mOTUs** différents.

Pour les (**171444**) **reads** attribués à un taxon, ils **correspondaient** à (**117**) **mOTUs** appartenant à **18 phylums** distincts. Parmi ceux-ci, seuls (**25**) **mOTUs** ont été identifiés au niveau des **espèces** (**Figure 21 ; Annexe F ; Tableau 9**). Lorsque l'on considère les

attributions (avec un seuil d'identité d'au moins 85%), **seuls 40%** des **mOTUs** des **annélides** et **47%** des mOTUs des **arthropodes** ont obtenu une **attribution** au niveau des **espèces**. Cela est moins (annélides), ou comparable (arthropodes) au résultat que nous avons obtenu à partir d'un ensemble de données marines publiées (Wangensteen *et al.*, 2018) pour lequel nous avons utilisé le même pipeline d'attribution et où nous avons respectivement obtenu 73% et 46% pour ces phylums. **Les** autres phylums de **métazoaires** ne méritaient pas d'être comparés car ils **comptaient moins de 15 mOTUs** dans l'un ou l'autre des jeux de données (le nôtre et le marin), voire les deux.

En terme d'**abondance** (nombre de reads qui représente le nombre de fragments ou de séquences d'ADN qui ont été séquencés à partir d'un échantillon), la **communauté** de **Chott Ech Chergui** révélée par le métabarcodage du **COI** était **dominée** par deux phylums de métazoaires, les **Arthropodes** au niveau de l'**eau** (27%) et les **Annélides** au niveau des **sédiments** (44%), ainsi que par un phylum d'eucaryotes photosynthétiques unicellulaires, les **Bacillariophyta** (20%), également connus sous le nom de diatomées (**Annexe F**).

La composition et la répartition des **communautés eucaryotes** dans le Chott Ech Chergui montrent des **variations significatives** entre les **sédiments et l'eau**. Une analyse plus approfondie révèle une **présence notable** d'organismes **non assignés** à un phylum spécifique dans l'**eau**, tandis que la répartition des phylums diffère entre les deux types de milieux.

Dans les **sédiments, la diversité taxonomique** se démarque par la présence prépondérante des **Bacillariophyta**, des **arthropodes** et des **annélides**, comptabilisant respectivement 28%, 22% et 8% des mOTUs identifiées. Contrastant avec cette distribution, **l'environnement aquatique** révèle une répartition diversifiée : les **Ochrophyta, les arthropodes, les Discosea, les Bacillariophyta** et les **annélides** occupent des parts de 17%, 14%, 14%, 8% et 7% respectivement des mOTUs. Globalement, l'analyse a recensé 84 mOTUs dans l'eau contre 45 mOTUs dans les sédiments (**AnnexeF**).

Certaines espèces trouvées dans le Chott Ech Chergui **n'avaient pas été enregistrées** précédemment dans la base de données mondiale **pour les zones arides d'Afrique du Nord GBIF** (Centre mondial d'information sur la biodiversité). Nous avons révélé la présence de **huit espèces** dans des régions géographiques où elles n'avaient pas été précédemment enregistrées et **avons étendu leurs gammes longitudinales**

précédemment enregistrées (une espèce de champignons : ***Emericellopsis minima***) **ou latitudinales** (deux espèces : Insecte (***Culicoides puncticollis***) et phytoplancton (***Chrysochromulina parva***)) ou bien **à la fois latitudinales et longitudinales** (cinq espèces : Oomycota (***Pythiogeton ramosum***) ; Discosea (***Cochliopodium larifeili***) ; algues dorées (***Pedospumella encystans***) ; escargots (***Pseudamnicola beckmanni***) et Insecte ***Culicoides sahariensis***). (**Tableau9**). Ces observations montrent que le **Chott** Ech Chergui est situé au **sud des gammes connues de ces espèces**, à l'**exception** de l'espèce ***Culicoides sahariensis*** qui a déjà été trouvée dans le **désert algérien.**

Tableau 9. Aires de répartition géographique des espèces d'eucaryotes retrouvées dans les données de métabarcodage du gène COI et sites de présence dans le Chott Ech Chergui.

phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce	L-Sebkha Sédiment	Basin Sédiment	S-Sebkha Sédiment	Hot-Spring-1 Eau	Chott Eau	L-Sebkha Eau	Hot-Spring-2 Eau	Basin Eau	S-Sebkha Eau	LatRange LatRange	LatRange AvecChott	LatDiff	LongRange LongRange	LongRange AvecChott	LongDiff	N°- Occurences	Environments	Identité %
Annelida	Clitellata	Haplotaxida	Naididae	Limnodrilus	Limnodrilus hoffmeisteri	9334	353	15475	0	548	0	0	0	0	103,67617	103,67617	0	249,743249	249,743249	0	1009	Sédiments et eau douce	97-100
Annelida	Clitellata	Haplotaxida	Naididae	Nais	Nais communis	0	0	0	0	0	803	0	0	0	122,2332	122,2332	0	323,49	323,49	0	3012	Eau et sédiments	100
Annelida	Clitellata	Haplotaxida	Naididae	Nais	Nais elinguis	0	0	0	0	0	0	0	188	0	125,3091	125,3091	0	327,783	327,783	0	274	Eau et sédiments	100
Arthropoda	Arachnida	Trombidiformes	Demodicidae	Demodex	Demodex brevis	0	0	0	0	0	0	0	146	0	42,343874	42,343874	0	180,474849	180,474849	0	4	Animaux	99
Arthropoda	Hexanauplia	Cyclopoida	Cyclopidae	Acanthocyclops	Acanthocyclops americanus	0	0	0	0	0	0	93	35	1572	72,020036	72,020036	0	170,979	170,979	0	106	Eau douce	100
Arthropoda	Insecta	Diptera	Ceratopogonidae	Culicoides	Culicoides punctricollis	0	0	340	0	0	0	0	0	0	3,859025	18,862914	-15,003889	22,785063	22,785063	0	3	Zones humides	99
Arthropoda	Insecta	Diptera	Ceratopogonidae	Culicoides	Culicoides sahariensis	0	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0,63611	0,63611	0	7,740833	7,740833	1	Zones humides	99
Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Cricotopus	Cricotopus ornatus	0	0	0	0	308	0	0	0	0	40,079097	40,079097	0	115,75729	115,75729	0	424	Zones humides	99
Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Polypedilum	Polypedilum nubifer	0	0	0	79	0	0	0	0	0	89,5608	89,5608	0	269,798	269,798	0	108	Zones humides	90
Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Procladius	Procladius choreus	0	0	0	0	0	459	0	0	0	27,369201	27,369201	0	141,239648	141,239648	0	153	Zones humides	100
Arthropoda	Ostracoda	Podocopida	Cyprididae	Heterocypris	Heterocypris salina	1278	0	0	231	0	0	0	0	0	44,763373	44,763373	0	248,796182	248,796182	0	259	Eau douce ou salée	97-100
Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	NA	Emericellopsis	Emericellopsis minima	0	0	0	0	46	0	0	0	0	39,843267	39,843267	0	6,594994	81,371833	74,776839	5	Eau de mer et plantes	97
Bacillariophyta	Bacillariophyceae	Bacillariales	Bacillariaceae	Nitzschia	Nitzschia palea	0	0	0	0	60	63	0	0	0	103,619067	103,619067	0	299,777143	299,777143	0	1203	Eau douce	99
Chlorophyta	Chlorophyceae	Chlamydomonadales	Chlamydomonadaceae	Chlamydomonas	Chlamydomonas leiostraca	0	0	0	0	0	95	0	0	0	89,82	89,82	0	268,2257	268,2257	0	13	Eau douce	99
Chordata	Actinopteri	Cichliformes	Cichlidae	Oreochromis	Oreochromis mossambicus	0	0	0	0	290	0	516	0	0	86,377682	86,377682	0	355,480291	355,480291	0	3596	Eau douce	100
Chordata	Aves	Gruiformes	Rallidae	Fulica	Fulica atra	0	0	0	0	833	0	0	0	0	126,835772	126,835772	0	347,46486	347,46486	0	171815	Zones humides	100
Chordata	Mammalia	Artiodactyla	Bovidae	Capra	Capra hircus	53	0	0	0	0	0	0	0	0	111,390418	111,390418	0	338,030853	338,030853	0	3072	Zones humides	100
Chromista	Haptophyta	Prymnesiales	Chrysochromulinaceae	Chrysochromulina	Chrysochromulina parva	0	0	0	0	0	0	185	8298	23034	28,408073	33,744062	-5,335989	107,154103	107,154103	0	993	Zones humides	97-100%
Discosea	NA	Himatismenida	Cochliopodiidae	Cochliopodium	Cochliopodium larfiellii	0	0	0	0	0	33	0	0	0	3,845665	29,299555	-25,45389	20,5505145	29,3093168	-8,804023	9	Eau douce	97
Mollusca	Gastropoda	Littorinimorpha	Hydrobiidae	Pseudamnicola	Pseudamnicola beckmanni	258	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,313889	-5,313889	0	1,931167	-1,931167	1	Eau douce	99
Ochrophyta	Chrysophyceae	Chromulinales	Chromulinaceae	Pedospumella	Pedospumella encystans	0	0	0	58	0	0	0	0	0	9,02	25,753889	-16,733889	3,92	24,409167	-20,489167	2	Eau salée	99
Ochrophyta	Chrysophyceae	Chrysophyceae	Segregatospumellaceae	Segregatospumella	Segregatospumella diatomoxa	0	0	0	35	0	0	0	0	0	112,564552	112,564552	0	284,81922	284,81922	0	233	Eau douce	99
Ochrophyta	Synurophyceae	Ochromonadales	Ochromonadaceae	Poterioochromonas	Poterioochromonas malhamensis	0	624	0	0	0	0	0	0	0	45,353966	45,353966	0	260,466805	260,466805	0	8	Eau douce	100
Oomycota	Oomycetes	Pythiales	Pythiogetonaceae	Pythiogeton	Pythiogeton ramosum	0	0	72	0	0	0	0	0	0	0,01	60,826111	60,816111	0	151,669165	-151,66917	2	Eau douce	97
Rotifera	Monogononta	Ploima	Synchaetidae	Polyarthra	Polyarthra vulgaris	0	0	0	0	0	0	0	3109	1830	97,425602	97,425602	0	142,469422	142,469422	0	867	Eau douce	99-100

En ce qui concerne les **courbes de diversité cumulée** des données **16s et COI** au niveau de l'**eau** et les **sédiments** pour des échantillonnages mensuels successifs on note une **augmentation** de manière relativement constante et **n'atteignent pas un plateau** (**Figure 21**).

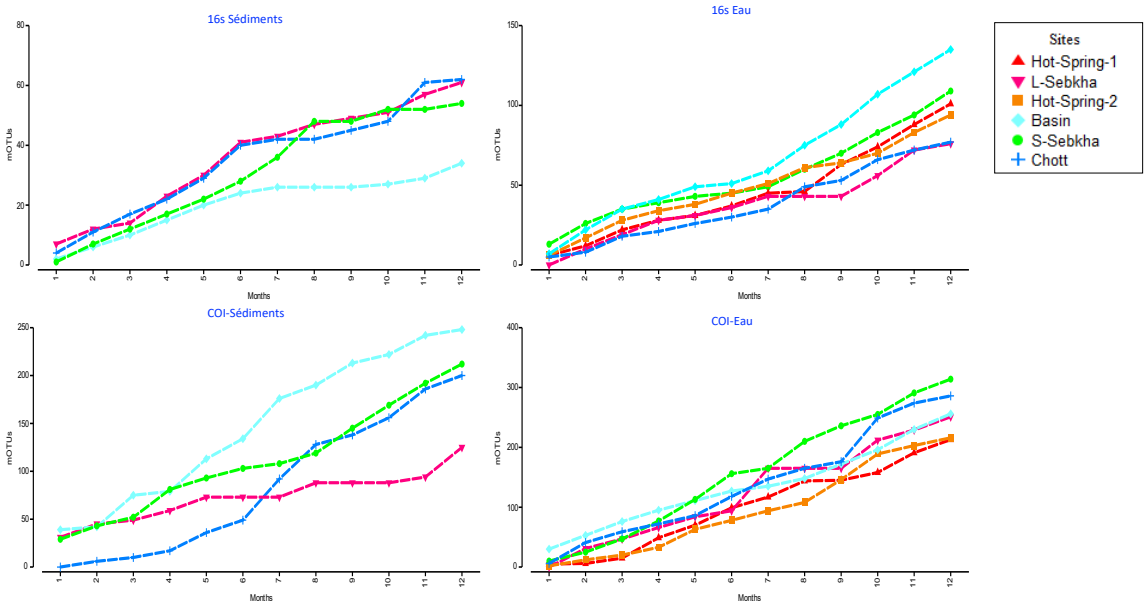


Figure 21. Courbes d'accumulation de la diversité (nombre de mOTUs) basées sur des échantillonnages mensuels pour chaque site, type d'échantillon et marqueur de séquençage (16S et COI). Les courbes illustrent le décompte cumulatif de mOTUs sur une période de 12 mois pour chaque site, type d'échantillon et marqueur de séquençage. Le premier graphique représente les données 16S dans les sédiments, où chaque courbe correspond à un site, avec les mois sur l'axe des x et le nombre de mOTUs sur l'axe des y. Le deuxième graphique présente les données 16S dans l'eau, le troisième graphique montre les données COI dans les sédiments, et le quatrième graphique affiche les données COI dans l'eau, tous partageant les mêmes noms de site, axes x et y.

8.3. Comparaison de la diversité alpha entre les types d'échantillons et les habitats

Pour le **16S** et le **COI**, l'indice de **diversité alpha** a révélé un nombre plus **élevé** de mOTUs dans les échantillons **d'eau** que dans les échantillons de sédiments (P <0,0001 pour le 16S, P<0,002 pour le COI) (**Figure 2O, Annexe E**). &

Pour **la richesse**, dans les ANOVA à facteur unique (note : même p-valeur avec les ANOVA à deux facteurs incluant soit le site soit l'habitat). Il n'y avait **pas de différences** de richesse **significatif** entre les **habitats**, pour aucun des deux marqueurs. Cependant, pour **le COI**, le **site** avait un **effet significatif** (p=0,038) sur la richesse en mOTUs, bien que les

différences ne soient pas saillantes et dépendent des mesures de la biodiversité (données non présentées).

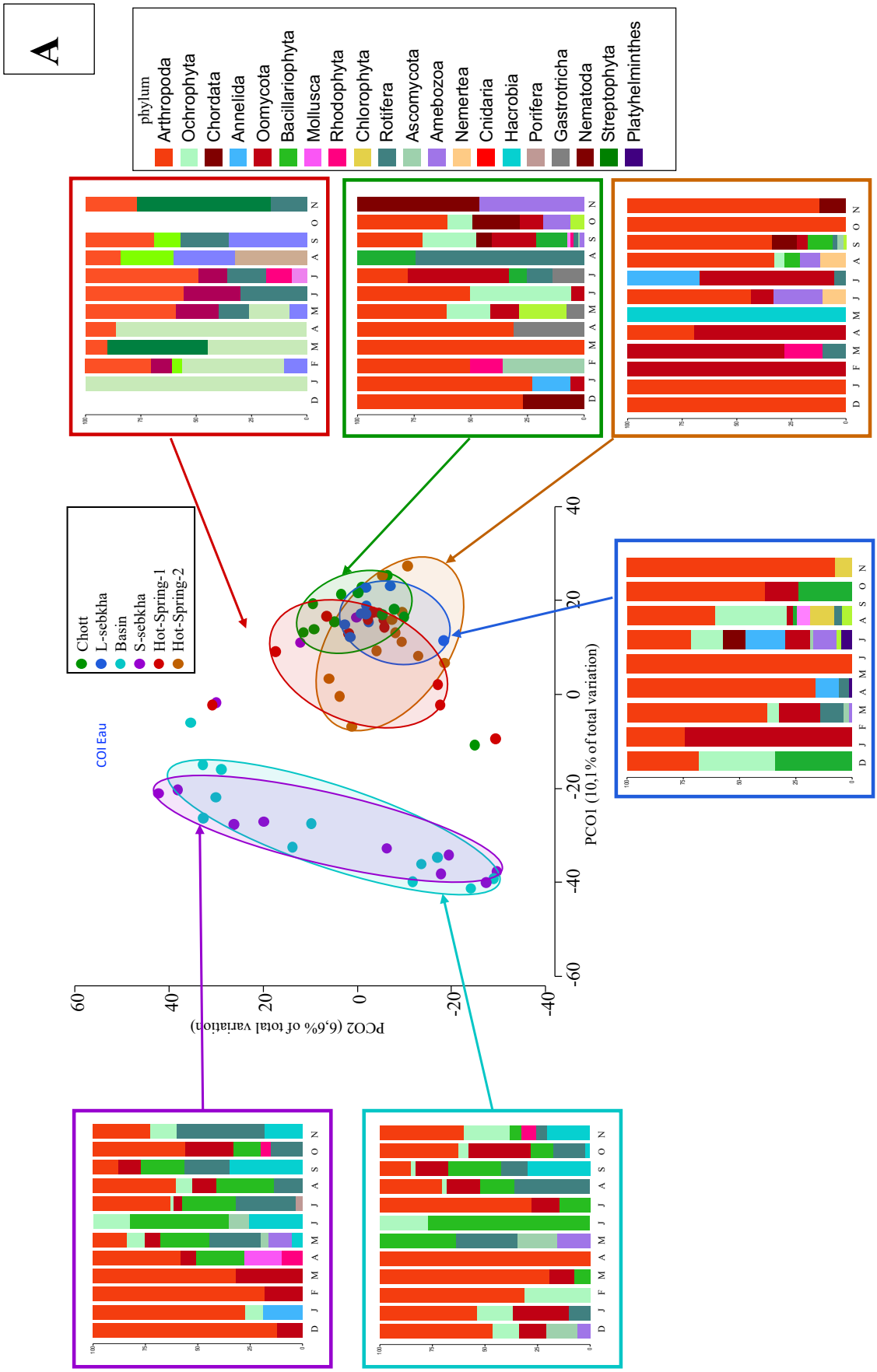
9. Facteurs et variables environnementales influençant la composition des communautés (diversité beta)

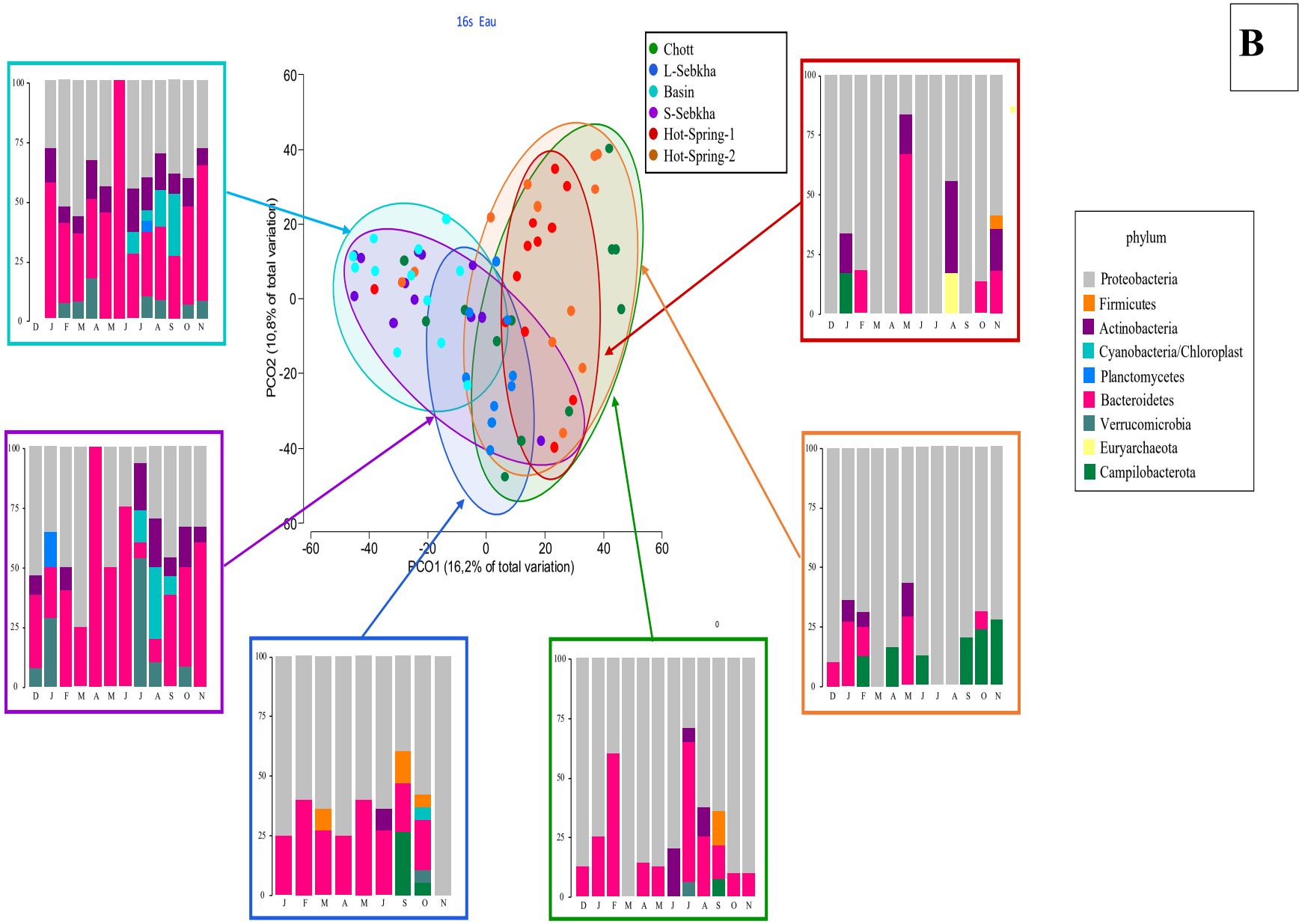
Les représentations multivariées fournies par les analyses PCO (ordination en composantes principales) illustrent la similitude de la composition des communautés entre les sites (**Figure 22 panneaux A à D**).

L'analyse **PERMANOVA** à deux facteurs a révélé que le **type** d'échantillon (sédiment ou eau) et le **site**, ainsi que leur **interaction**, avaient des effets **hautement significatifs** sur la composition des communautés pour le **16S** et le **COI** (**Annex H**).

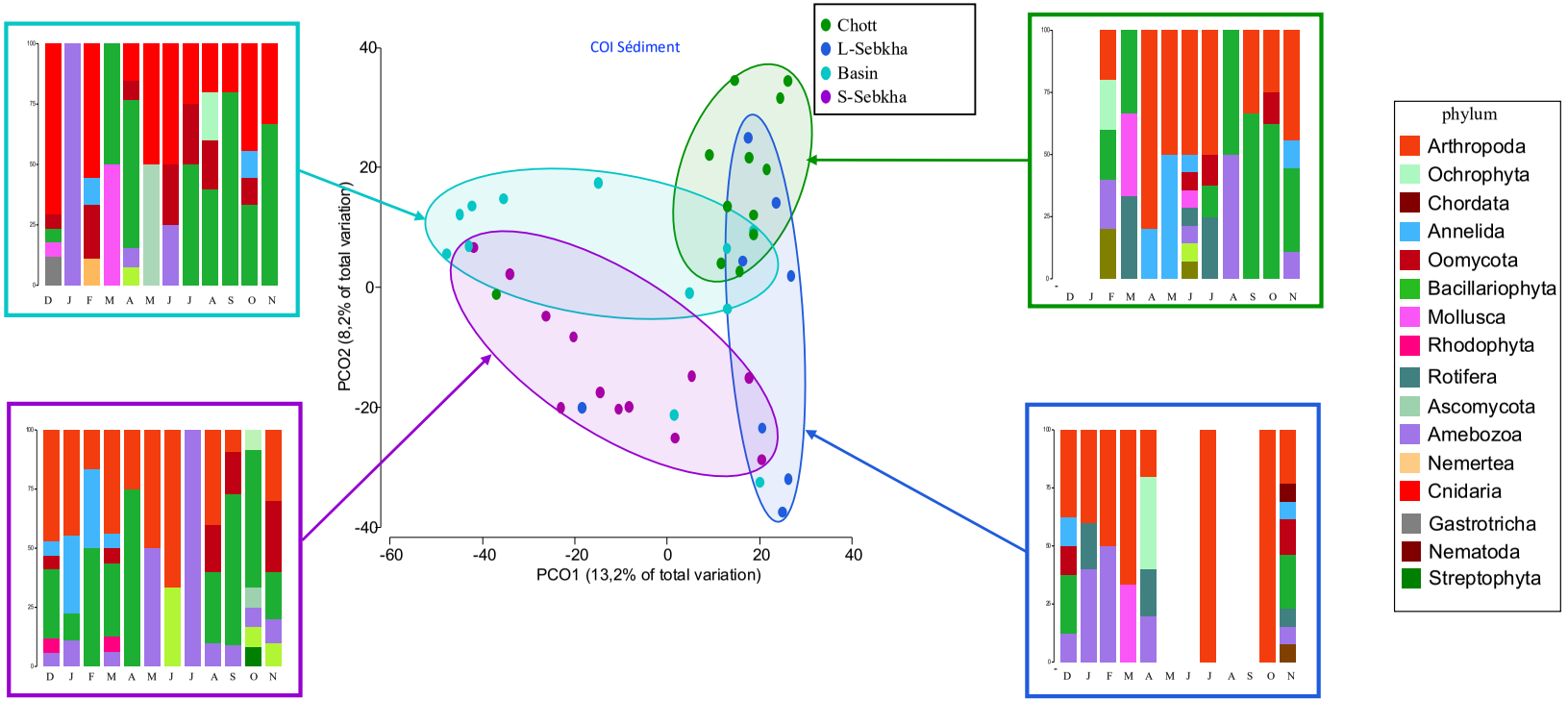
Pour les échantillons **d'eau**, les analyses **Permanova** à deux facteurs ont révélé des **effets** très **significatifs** à hautement significatifs à la fois du **site** et du **mois** pour les données **16S** et **COI** ($p<0.001$ pour l'effet site sur les données 16S, et $p<0.01$ pour les effets site du COI, ainsi que les effets mois des deux marqueurs).

Aucun des deux facteurs (**site/mois**) n'était **significatif** pour les données des échantillons de **sédiment** pour aucun des marqueurs (**Annexe** : Fichier supplémentaire des résultats des Permanovas effectuées avec Primer7).


A
phylum
Arthropoda
Ochrophyta
Chordata
Annelida
Oomycota
Bacillariophyta
Mollusca
Rhodophyta
Chlorophyta
Rotifera
Ascomycota
Amebozoa
Nemertea
Cnidaria
Hacrobia
Porifera
Gastrotricha
Nematoda
Streptophyta
Platyhelminthes
Chott
L-sebkha
Basin
S-sebkha
Hot-Spring-1
Hot-Spring-2
COI Eau
PCO2 (6,6% of total variation)
PCO1 (10,1% of total variation)
D J F M A M J J A S O N


16s Eau
B
Chott
L-Sebkha
Basin
S-Sebkha
Hot-Spring-1
Hot-Spring-2
PCO2 (10,8% of total variation)
PCO1 (16,2% of total variation)
phylum
Proteobacteria
Firmicutes
Actinobacteria
Cyanobacteria/Chloroplast
Planctomycetes
Bacteroidetes
Verrucomicrobia
Euryarchaeota
Campilobacterota
D J F M A M J J A S O N
J F M A M J S O N

C


COI Sédiment
Chott
L-Sebkha
Basin
S-Sebkha
PCO2 (8,2% of total variation)
PCO1 (13,2% of total variation)
40
20
0
-20
-40
-60
-40
-20
0
20
40
D J F M A M J J A S O N
phylum
Arthropoda
Ochrophyta
Chordata
Annelida
Oomycota
Bacillariophyta
Mollusca
Rhodophyta
Rotifera
Ascomycota
Amebozoa
Nemertea
Cnidaria
Gastrotricha
Nematoda
Streptophyta

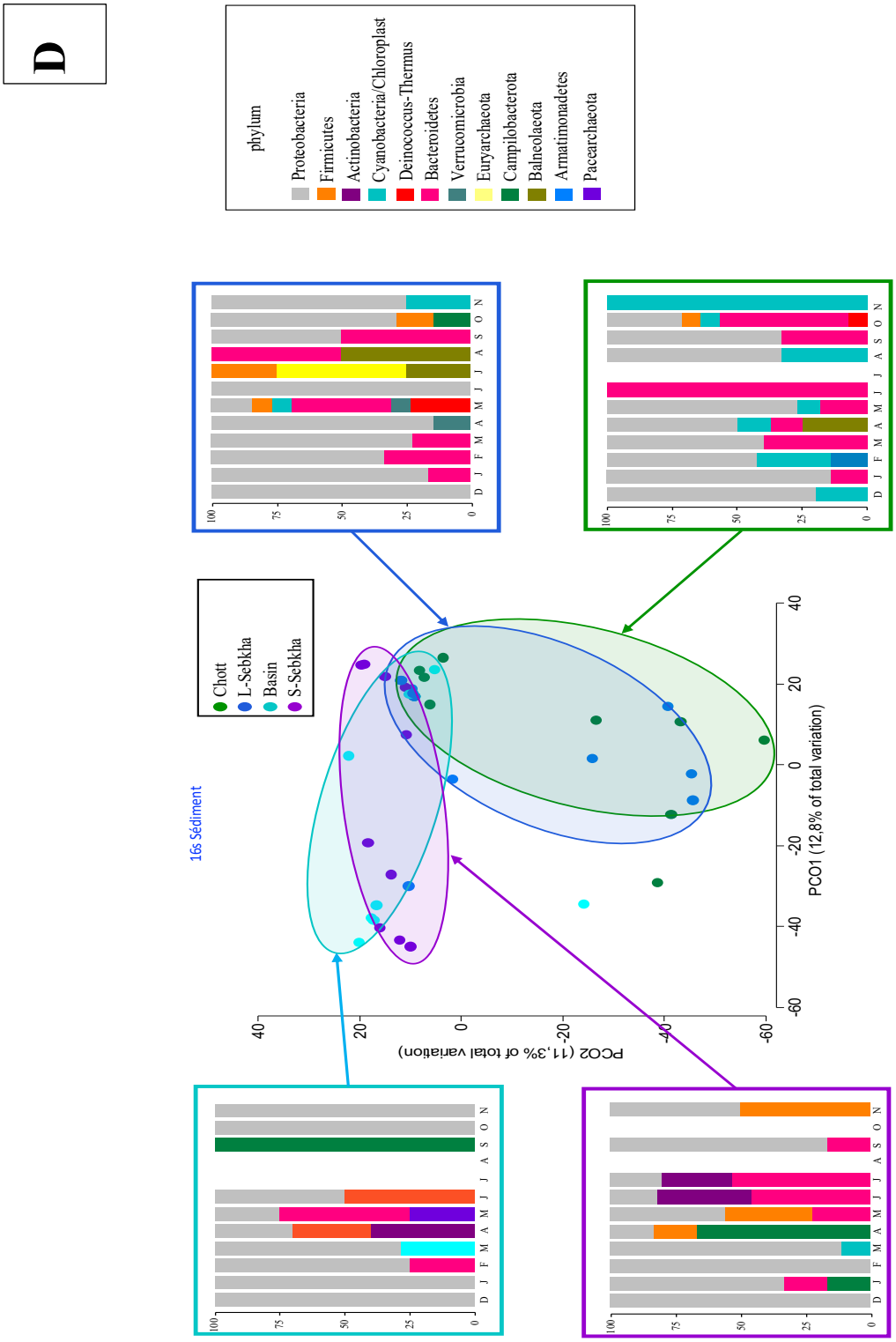


Figure 2. Représentation ordonnée par PCoA (Analyse des Coordonnées Principales) des échantillons, générée en utilisant la similarité de Bray-Curtis, avec des ellipses regroupant les points de chaque site. Chaque ellipse est associée à une flèche pointant vers un graphique à barres distinct, représentant la richesse mOTU par mois, avec des phylums colorés différemment. Les échantillons sont différenciés par des couleurs et des formes uniques pour chaque site dans la PCoA, fournissant une visualisation claire des similitudes et des variations temporelles. Quatre

panneaux de figures de (A à D) sont générés pour chaque type d'échantillon (eau/sédiment) et chaque marqueur génétique (COI/16S).
Pour les **échantillons d'eau**, nous avons pu étudier le rôle des **paramètres environnementaux** (**Figure 18**) directement en utilisant un algorithme basé sur une matrice de distance multivariée qui effectue essentiellement des régressions multiples pour trouver le meilleur ensemble de paramètres environnementaux expliquant la composition en espèces (**Annex H**).
Les analyses **DIstLM** pour les données **16S** ont montré que la **température** et le **pH** constituaient le meilleur ensemble de **paramètres représentant** les différences de **composition des communautés** parmi les échantillons de Chott Ech Chergui. Le modèle avec ces deux variables expliquait **7,04**% de la variation. **L'ajout** de l'une des autres **variables** (salinité, concentration en orthophosphate, concentration en ammonium, concentration en oxygène) **n'améliorait pas la prédiction** selon les critères **AIC** ou **AICc,** même si ces variables sont connues pour être écologiquement pertinentes et de plus non corrélées parmi nos variables.
Il est à noter que les valeurs d'**AIC** ou d'**AICc** étaient **presque identiques** parmi les modèles avec **plus de variables** (la salinité était la variable suivante dans l'ordre d'amélioration du modèle, suivie de la concentration en oxygène).

Pour la même analyse avec les données d'assemblages du marqueur **COI**, la **salinité** a **expliqué 8,95%** de la **variation**. Cependant, seule **la température** a été conservée avec le critère **AICc**. Quant au données **16S**, la concentration en **oxygène** était la variable suivante considérée comme **(**ajoutant de l'information**)**, mais les modèles avec certaines de ces quatre variables avaient des **valeurs d'AIC ou d'AICc très proches**.

Les matrices de similarité de **Bray-Curtis** entre les **sites** (abondances de mOTU pour chaque site étant la somme des 12 échantillons mensuels) (**Tableau 10**) ont révélé que les **communautés** les plus **similaires** étaient de loin les sites **N°6 (S-Sebkha) et le Site N°5 (Basin)**, à la fois pour les ensembles de données **16S et COI**, et pour l'**eau** et les **sédiments**. Le site N°6 (S-Sebkha) est un milieu salin tandis que le Site N°5 (Basin) est un habitat de transition (ou de confluence). Il est à noter que les deux sites étaient assez différents en composition de l'habitat des sources chaudes (Site N°1 et N°4) (la similarité de Bray-Curtis = 9,71 pour le COI, 33,65 pour le 16S) par rapport à la plus faible similarité de l'ensemble de données, qui affichait environ la moitié de cette similarité : 5,07 pour le

COI et (entre les sites N°3 L-Sebkha et le N°5 Basin), et 16,23 pour le 16S entre site N°1 et N°6 (Hot-spring-1 et S-Sebkha) respectivement. Ces relations sont également visibles dans la PCO (**Figure 22**).

Pour le marqueur 16S (**Annexe E ; F et G ; Figure. 21 ; 22 & S1**), les phylums contribuaient différemment à la structure de la communauté entre les sites. Nous avons observé une différence majeure dans la composition de la communauté entre la L-Sebkha et les autres sites, et nous avons également observé des différences entre les autres sites, malgré la proximité spatiale de certains d'entre eux. En ce qui concerne les sédiments, nous observons une nette diminution du nombre de mOTUs distincts avec l'augmentation des températures (entre mai et août) (**Figure 21**). De même, la diversité change également avec la température (**Annexe F et G**), avec un changement de communauté et l'apparition des taxa extrémophiles Deinocccus, Balneolaeota et Euryarcheota (L-Sebkha), et le phylum Pacearcheota (Basin).

Tableau 10. Moyenne de similarité Bray-Curtis entre les paires de sites. Les comparaisons entre les sites alimentés par la même source thermale sont dans les cellules grises : Hot- Spring-1, Chott et L-Sebkha d'une part, et Hot-Spring-2, Basin et S-Sebkha d'autre part.

16S Eau	Chott	L- Sebkha	S- Sebkha	Basin	Hot-Spring-1	Hot-Spring-2
Chott						
L- Sebkha	38,1816408					
S- Sebkha	28,4237684	20,6245402				
Basin	34,4383933	22,2992629	**65,5436444**			
Hot-Spring-1	35,9001636	22,2541972	24,6272971	27,4100327		
Hot-Spring-2	27,3281752	22,1172124	***15,2309255***	19,6825561	33,648353	

COI Eau	Hot-Spring-1	Chott	L-Sebkha	Hot-Spring-2	S Basin	S-Sebkha
Hot-Spring-1						
Chott	9,9735032					
L-Sebkha	6,11321589	16,5769979				
Hot-Spring-2	9,70723999	11,3283616	8,04718759			
S Basin	15,2474778	10,4139174	***5,0721432***	12,7737293		
S-Sebkha	23,8687051	12,6545743	5,13704603	13,9817245	**53,7951205**	

COI Sédiment	Chott	L-Sebkha	S-Sebkha	Basin
Chott				
L-Sebkha	20,5571804			
S-Sebkha	17,5946647	22,2611951		
Basin	19,5415318	***13,2218415***	**29,2993448**	

16S Sédiment	Chott	L-Sebkha	S-Sebkha	Basin
Chott				
L-Sebkha	**29,7803915**			
S-Sebkha	***9,68386801***	18,9462122		
Basin	15,4224952	20,002098	**29,4566166**	

En gras, la similarité maximale entre les sites
Sur fond rouge, la similitude entre les deux sites thermales
En bleu, fond, la similitude entre les solutions salines et hypersalines
Sur fond vert, similarité entre les deux sites de confluence
En fond gris, les sites d'un même sous-réseau (habitats distincts)
En italique gras, la similarité minimale

Noter que :
Les comparaisons au sein des habitats (fond colorés) ne représentent jamais la plus grande similarité.

10. Diversité bêta (identification des taxons) : quels sont les principaux taxons influencés par l'habitat ?

Les analyses **SIMPER**, basées sur la mesure de similarité de **Bray-Curtis**, ont révélé des schémas complexes de **diversité microbienne** parmi les habitats étudiés. Ces analyses ont identifié de six à 10 mOTUs (selon l'habitat), avec une contribution cumulative atteignant 70% pour expliquer la spécificité de chaque habitat (soit un total de 35 mOTUs) (**Annexe G**). Malgré la grande diversité et l'**absence** d'**espèces** typiques **discriminatives**, l'analyse **SIMPER** a mis en évidence des **genres extrémophiles spécifiques** qui ont joué un rôle significatif dans la formation de la similarité entre les communautés microbiennes dans ces **habitats**. De plus, l'**identification** de plusieurs **genres** présentant **de faibles pourcentages d'identité** avec les espèces des bases de données de référence suggère la présence potentielle de nouvelles espèces ou de nouveaux genres adaptés à des conditions extrêmes qui sont absents des bases de données de référence.

11. Communauté microbienne extrême

Halophiles

À partir de notre ensemble de données, au moins **37 mOTUs** ont été assignés à **8 phylums** (1 archée et 7 bactéries) et **29 genres** appartenant à des micro-organismes **halophiles. 17 mOTUs** (correspondant à 15 genres distincts) ont été assignés aux **protéobactéries** (huit gamma et sept alpha Protéobactéries), plus de **11 mOTUs** (cinq genres) appartenaient aux **Bacteroidetes**, **un mOTU** (trois genres) appartenaient aux **Firmicutes**, **un mOTU** (un genre) pour (**Balnéoléota, Campilobactérotas, Verrucomicrobia, Actinobactéries**), **deux mOTUs** pour (deux genres) **Archées**. **Environ la moitié** de la diversité des halophiles **se trouvait** dans le **site N°3** (habitat hypersalin) de Chott Ech Chergui (**Annexe F**).

D'autre part, **seuls** les échantillons de **sédiments** appartenant au **siteN°3** (L-Sebkha) **abritaient des archées extrêmement** halophiles assignées à la **classe** des **Halobactéries. Le reste** des bactéries halophiles était **réparti** entre les sites **en fonction**

du **gradient de salinité**. La plus **grande abondance** se trouvait sur les sites **N°2** (Chott) et **Site N° 3**(L-Sebkha), Le site N°2 alimenté par l'eau douce du site N°1(Hot-Spring-1) et partage avec le site N°3(L-Sebkha) hypersalé le type de sédiment,. Suivi par le petit lac salé **site N°6** (S-Sebkha), qui est alimenté par l'eau de la deuxième source thermale site N°4 (Hot-spring-2) et a **donc une salinité plus faible**.

Thermophiles

Une **communauté** plus **restreinte** de procaryotes **thermophiles** (7592) Reads correspondant à **sept mOTUs** a été principalement trouvée. Appartenant à **trois phylums** de bactéries (**Protéobactéries, Actinobactéries et Déinocoques**) et à **un phylum d'Archées** (**Euyarcheyota**). La source chaude Hot-Spring-1(**Site N°1**) présentait **la plus grande diversité** de procaryotes **thermophiles** avec **71%** (5 mOTUs sur sept), **le site N°3** (L-Sebkha) présentait **la plus grande abondance** appartenant à **un seul genre**, ***Thermocromatium*.** Dans **les sédiments** du même **site (N°3)** et du site adjacent (**Site N°2**) de Chott, nous avons trouvé des **Déinocoques**, un autre taxon **polyextrême.**

V. Discussion

Plusieurs zones humides aux conditions environnementales extrêmes ont fait l'objet de recherches approfondies pour décrire la diversité microbienne et le potentiel biotechnologique. C'est notamment le cas du Chott El Jerid, en Tunisie, qui se trouve en région aride avec des conditions hypersalines, qui a été étudié pour cribler des bactéries et des isolats d'archaea pour l'accumulation de polyhydroxyalkanoates (Ben Abdallah *et al.,* 2020). Les méthodes utilisées pour l'identification de ces micro-organismes incluaient la quantitative real-time PCR, la DGGE ciblant le gène 16S ARNr, ainsi que des méthodes dépendantes de la culture. Ces techniques ont révélé principalement la présence de bactéries apparentées aux phylums Firmicutes, Proteobacteria, des bactéries non classifiées et Deinococcus-Thermus. Dans le domaine des archées, toutes les séquences ont été affiliées au phylum Euryarchaeota. En outre, huit souches bactériennes fermentatives anaérobies halophiles ont été isolées et affiliées aux espèces *Halanaerobium alcaliphilum, Halanaerobium saccharolyticum* et *Sporohalobacter salinus* Cette étude a permis également d'identifier des genres *Bacillus* et *Haloferax*, accumulatrices de polyhydroxyalkanoates. Ces données avaient mis en évidence une communauté microbienne abondante et diversifiée dans l'environnement hypersalin du Chott El Jerid.

La zone géothermique hypersaline de Dallol, dans le désert de Danakil (Éthiopie), contenant des conditions chaotropes liées à des saumures dominées par Mg++/Ca++, une hyperacidité et des températures élevées, a permis d'identifier des archées polyextrémophiles (Belilla *et al.,* 2019).

Les chercheurs ont utilisé principalement des approches de métabarcodage du gène 16S/18S ARNr, des méthodes de culture, et des analyses chimiques pour étudier les gradients polyextrêmes de cette zone géothermique. Leurs résultats ont montré une dominace des archées réparties dans des phyla avec des espèces halophiles ont certaines étaient inconnues auparavant. Les chercheurs ont émis l'hypothèse que le niveau élevé de K+ cytoplasmique était une adaptation archéenne originale à l'hyperthermophilie, ensuite utilisée lors de multiples transitions vers l'halophilie extrême. Ils ont également

détecté un processus actif d'encroûtement/fossilisation de la silice des cellules ainsi que des biomorphes abiotiques de chimie variée.

Leurs résultats d'analyse de métabarcodage a révélé que les amplicons des sites aux conditions environnementales les moins extrême s (température proche de 30°C et faible acidité pH :4 et salinité de 100g/L) étaient largement dominés par des séquences archéales (>85%), regroupant des OTU divers et abondants En revanche, les amplicons dérivés des bassins de Dallol, des lacs Noir et Jaune (Sites hyper acide (jusqu'à pH : -0,43) et hyper chaud (Tempérture allant jusqu'à 100°C), mais également des "contrôles négatifs" de la PCR étaient dominés par des séquences bactériennes. La plupart d'entre elles étaient en fait liées à des contaminants (au sens d'artefacts du processus de biologie moléculaire, notamment de PCR, pas de pulluants chimiques ou organiques). Après élimination de ces séquences de contaminants seules quelques OTU rares englobant peu de lectures ont pu être associées aux échantillons saumures (soit les plus extrêmes). Des abondances légèrement plus élevées d'OTU archéales ont été identifiées dans les échantillons de "sol".

Dans notre projet nous avons d'abord initié l'investigation physico-chimique et bactériologique du Chott Ech Chergui (Algérie), où nous avons constaté que le manque d'eau est la principale contrainte de cette zone humide, qui survient de façon saisonnière dans certaines zones ou constitue un stress chronique dans d'autres.

Caractérisation Physicochimique du Chott Ech Chergui

la plupart des sites du Chott Ech Chergui que nous avons étudiés ici présentent des eaux de surface eutrophes. La dynamique des éléments chiqmiques nécessaire aux développement et à la survie des organismes vivants est affectée par le lessivage des sols qui suit les périodes de pluies, et par l'évaporation de l'eau lors de la saison sèche, qui conduit a la concentration des Nitrates, Nitrites et les Orthophosphates dans l'eau.

Une combinaison d'excès de ces éléments favorise la proliferation de microalgues provoquant l'eutrophisation et réduisant ainsi la disponibilité d'oxygène dissout dans l'eau, ce phénomène peut entraîner une suffocation des poissons et autres espèces aquatiques nécessitant l'oxygène, perturbant l'équilibre naturel de l'écosystème (Pinay *et al.*, 2018).

Notre étude distingue quatre habitats clés dans la zone humide du Chott Ech Chergui propices à l'isolement des bactéries extrêmophiles. Le premier habitat concerne les sources chaudes des site N°1 et N°4 (Hot Springs) et se caractérise par des températures comprises entre (37-40°C) tout au long de l'année et un caractère oligotrophe, avec de faibles teneurs en matière organique, azote et phosphore. Ces caractéristiques imposent de fortes contraintes physiologiques qui devraient limiter le métabolisme, la croissance et la multiplication des bactéries (Berenguer, 2011; Arbab *et al.*, 2022). Selon la classification de (Skopljak *et al.,* 2006), ces eaux thermales sont classées comme des eaux chlorurées calciques, ce qui les différencie des autres sources thermales de la région, qui présentent des teneurs plus élevées de sodium et de sulfate. (Hazzab, 2011 ; Ouali *et al,* 2018).

Parmi les huit sources thermales pertinentes du secteur public en Algérie, L'eau thermale du Hammam Charef, située à ~200 km à l'est de Chott Ech Chergui se distingue en présentant une composition chimique de l'eau similaire de celle de Chott Ech Chergui (Ouali et al., 2018).

Le deuxième habitat est hypersalin concerne le site N°3 (L- Sebkha), La salinité de ses sédiments dépasse les 300 gL^{-1} et de son eau les 80 gL^{-1} cette différence de concentration en sels est potentiellement liée au fait que cet habitat est alimenté en eau douce, des sources chaudes et de pluie. Il se distingue également par ses concentrations élevées de chlorure, de magnésium, de calcium, de nitrites, de nitrates, d'orthophosphates et d'ammonium ce qui devrait favoriser la croissance d'organismes vivants halophiles englobant différents règnes tels que les bactéries, les archées, les algues, les plantes et d'autres formes de vie adaptée à des fortes concentrations en sels.

En comparaison avec d'autres habitats hypersalins d'Afrique du nord, les trois lacs salés arides permanents de la vallée de l'Oued Righ (nord-est de l'Algérie) présentaient le même type d'eau chlorées, sulfatées et calcique (Gouasmia *et al.,* 2016) ; tandis que parmi les quatre lacs salés en Tunisie, les concentrations en ions Na+, K+ et Cl^- dans l'eau dominent respectivement dans trois lacs, avec des niveaux variables pour chaque ion. Chott el Jerid affiche des concentrations relativement plus élevées en Na+ et Cl–, tandis que Sebkhat el Melah et Sebkhat el Adhibate présentent des variations dans les concentrations en K+ et Cl–. En revanche, Sebkhat om Khialate se caractérise par une prédominance en sulfates, bien que la dominance des ions Cl^- soit présente dans la plupart des lacs, y compris le Chott Ech Chergui, il est pertinent de noter que la concentration

moyenne en chlorures au niveau du Chott Ech Chergui est environ deux fois plus élevée que dans les autres sites étudiés (Kbir-Ariguib *et al.,* 2001). Le troisième habitat (Sites N°6 (S-Sebkha) et N°7 (Oued)), est caractérisé par un pH plutôt alcalin (pH>7) et une faible salinité par rapport au deuxième habitat (NaCL<6% dans l'eau et 21,2% dans les sédiments) par rapport au précedent habitat celui la est plus favorables au développement de micro-organismes alcalinophiles et halophiles. Le quatrième habitat (Sites N°2 (Chott) et N°5 (Basin)) compte tenu de sa situation à la confluence des trois habitats précédents, présentait des valeurs moyennes de nutriments, de pH, de salinité et de température, faisant de lui l'habitat le plus hospitalier du Chott Ech Chergui qui devrait donc abriter une vie biologique abondante et diversifiée.

Carctérisation et identification des souches microbiennes extrêmophiles isolé du Chott Ech Chergui `

Notre étude microbiologique a permis la caractérisation bactériologique, biochimique et moléculaire de plusieurs isolats extrêmophiles affiliés aux Proteobacteria, avec plusieurs souches regroupées aux genres *Chromohalobacter* et *Salinicola* et aux Firmicutes, avec plusieurs souches regroupées aux genres *Bacillus, Geobacillus, Staphylococcus, Exiguobacterium, Lysinibacillus* et *Virgibacille.* De tels taxons bactériens ont également été isolés des écosystèmes salins du nord-est de l'Algérie (Menasria *et al.,* 2019), des marais salants de Corée (Lee et al., 2012), de divers habitats salins en Inde (Kumar *et al.,* 2012).
Tous nos isolats bactériens avaient la capacité de se développer à un pH alcalin et à des concentrations élevées de sel. Les isolats bactériens affiliés aux Firmicutes formaient un groupe de bactéries halotolérantes, à l'exception de la souche *Virgibacillus* OM301613 considérée comme halophile, comme tous les isolats bactériens affiliés aux Proteobacteria. Selon la classification des alcaliphiles (Mevada *et al.,* 2022), trente isolats bactériens ont été considérés facultative alcaliphiles, alors que seulement neuf étaient considérés comme alcalitolérants.
Trois isolats bactériens affiliés au genre *Exiguobacterium* (souches OM301601, OM301581 et OM301607) peuvent se développer à des températures allant de 4°C à 60°C et sont donc considérés comme psychro-thermotolérants. Un isolat bactérien affilié au genre *Geobacillus* (souche OM301608) est considéré comme thermophile car il montre la

capacité de se développer à 100°C, tandis que tous les autres isolats bactériens sont considérés comme méso-thermotolérants car ils montrent des capacités à se développer à des températures allant de 15°C à 60°C. L'identification de bactéries thermotolérantes affiliées aux genres *Bacillus* et *Geobacillus* n'est pas surprenante car elles ont souvent été décrites comme des membres abondants de la communauté microbienne vivant dans des environnements thermiques (Łubkowska *et al.*, 2021) et figurent parmis les micro-organismes à fort potentiel biotechnologique (Amin *et al.,* 2018 ; Narsing Rao *et al .,* 2018 ; Panosyan *et al.,* 2018; Xian *et al.,* 2018 ; Kochhar *et al.*, 2022).

Bien que tous nos isolats bactériens soient polyextrêmophiles, leur site d'origine détermine leur degré de tolérance aux trois principales contraintes de la zone humide du Chott Ech Chergui (température, alcalinité et salinité). Par exemple, les souches qui peuvent se développer à des concentrations élevées de sel ont été trouvées dans les deuxième et troisième habitats caractérisés respectivement par la salinité et l'alcalinité ; et ceux qui peuvent pousser à haute température ont été trouvés dans le premier habitat caractérisé par des températures éleevées et dans le quatrième habitat présentant des conditions intermédiaires. Cependant, des souches alcalinophiles et alcalino-tolérantes ont été trouvées dans les quatre habitats.

Les micro-organismes extrêmophiles résisstent généralement aux conditions extrêmes grâce à leurs enzymes qui ont un potentiel important dans diverses applications biotechnologiques et industrielles (Quérellou and Guezennec, 2010; Coker, 2016). Selon l'étude de (Kakkar and Wadhwa, 2021) la souche *Bacillus* sp. NM-Da2 produit respectivement de la cellulase, de l'amylase, de la xylanase et de la protéase. Ces enzymes très sollicitées dans différentes industries pharmaceutiques et alimentaire, ainsi que celles des détergents, du papier et du textile. Dans l'industrie textile par exemple les enzymes de ces bactéries réduisent les fissures, participent à l'élimination de l'amidon et à la décoloration du textile, servent également à hydrolyser les graisses et à éliminer les lubrifiants.

Plusieurs isolats bactériens de notre collection se sont avérés exprimer des activités enzymatiques précieuses en biotechnologie (telles que les lipases et les amylases) dans une large gamme de températures et/ou de concentrations de sel. Ces tests bactériologiques initiaux ouvrent une perspective d'investigation biochimique des molécules bioactives correspondantes produites par ces isolats bactériens (Boyadjieva *et al.,* 2018 ; Pham *et al.,* 2021 ; Qiu *et al.,* 2021) et mettent en évidence le potentiel

biotechnologique de la biodiversité de la zone humide de Chott Ech Chergui en tant que réservoir d'isolats bactériens polyextrêmophiles.

Le métabarcodage a révélé des effets marqués à la fois de la niche locale et de la connectivité sur la composition de la communauté

Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser l'ADN environnemental et l'approche de métabarcodage pour étudier la distribution et le type de vie des communautés d'eucaryotes et de procaryotes dans l'environnement polyextrême du Chott Ech Chergui. Bien que nous ayons trouvé un grand nombre de mOTUs, les courbes de cumul de l'alpha-diversité mensuelle n'atteignent pas un plateau, ce qui illustre que de nombreux autres mOTUs seraient trouvés si nous avions plus d'échantillons. Cependant, même avec cet échantillonnage partiel de la diversité existante, nous avons retrouvé des effets nets du site, du mois et des paramètres environnementaux sur la composition des communautés, ce qui reflète la puissance du métabarcodage pour étudier des environnements aussi contrastés et extrêmes.

Nos résultats soutiennent l'idée que les caractéristiques physiques et chimiques d'un site peuvent affecter les communautés qui y vivent, comme le démontrent également les résultats de d'isolement et de cultures bactériennes, cependant, la similarité de la composition des communautés ne reflétait pas parfaitement les habitats distincts et extrêmes définis par l'ensemble des paramètres physico-chimiques. En effet, deux sites issus d'habitats distincts (le site alcalin et un site de confluence) étaient plus similaires que tous les autres pour les deux marqueurs (ADNr16s et COI) et les deux types d'échantillons (échantillons d'eau ou de sédiments). Ils se regroupent tandis que les deux assemblages de sources chaudes étaient moins similaires. Cette resemblance des sites semble donc plutôt expliquée par la proximité spatiale et la connexion hydrologique. Ainsi, même à une échelle plutôt locale, nos données contredisent l'hypothèse de Baas Becking selon laquelle pour les micro-organismes de la planète "tout est partout, mais l'environnement sélectionne". Nous suggérons que cela reflète le fait que les communautés de Chott Ech Chergui résultent d'un équilibre dynamique complexe entre la connectivité résultant du réseau hydrographique (qui transporte des organismes d'un site à un autre) et la sélection naturelle par des facteurs surtout abiotiques (qui élimine les organismes non adaptés d'un site où ils ont été introduits par le flux d'eau). En effet,

le régime hydrographique offre des explications sur le modèle de similarité des communautés (Clausen and Biggs, 1997; Brock *et al.*, 2005; Monk *et al.*, 2008). Le site N°1(Hot-Spring-1) qui correspond a la 1ère source thermale alimente principalement deux sites le N° 2 et N°3, nommés Chott et L- Sebkha, tandis que le site N°4 (Hot-Spring-2) qui correspond a la 2ème source thermale alimente principalement le le site N°5 et N°6 (Basin et S-Sebkha). La nappe phréatique du Chott Ech Chergui relie tous les sites entre eux.

En raison du flux d'eau dans le Chott Ech Chergui, les organismes vivants sont constamment dispersés, ceux parmi eux qui possèdent la capacité de s'adapter où ils sont arrivés vont se multiplier et d'autres sont sensibles aux variations des conditions abiotiques et peut-être également biotiques (comme la compétition, voire la prédation , ...) finiront par cesser leur croissance et décliner en population. Les vitesses relatives de ces phénomènes déterminent la composition observée dans un lieu donnée à un temps donné.

Le métabarcodage du COI est encore plus puissant que celui du 16S pour révéler les facteurs déterminants de la composition de la communauté

Nous nous attendions à ce que le métabarcodage 16S révèle plus clairement les effets écologiques que le COI pour plusieurs raisons. ((1) Le métabarcodage COI est davantage connu et optimisé pour l'identification des animaux (Hebert *et al.*, 2003) et l'on s'attend à trouver beaucoup moins de spécimens de métazoaires que de cellules procaryotes dans un échantillon environnemental donné (qui correspond à une quantité d'eau ou de sédiment très réduite). (2) nous connaissons beaucoup plus de procaryotes adaptés aux environnements extrêmes que d'eucaryotes notamment métazoaires (McMullin *et al.*, 2000; Islam and Schulze-Makuch, 2007; Weber *et al.*, 2007; Bang *et al.*, 2018). (3) Le 16S est beaucoup plus couramment utilisé que le COI dans le métabarcodage environnemental (Takahashi *et al.*, 2023b). Contrairement aux attentes, notre jeu de données COI a révélé des effets encore plus clairs du site, du mois, du réseau hydrique et des paramètres environnementaux que le métabarcodage 16S. De plus, un ensemble similaire restreint de paramètres environnementaux expliquait les différences de

communauté pour les deux marqueurs (température et pH), avec l'ajout de la salinité pour le COI (et la salinité était également le paramètre suivant le plus important pour le 16S). Cela peut refléter que : (i) ces facteurs abiotiques extrêmes dans les habitats distincts de cette zone humide (température, pH et salinité) représentent une forte pression de sélection importante sur toutes les communautés, à la fois eucaryotes et procaryotes, et/ou (ii) que les communautés de procaryotes et d'eucaryotes sont liées par des interactions interspécifiques (biotiques) fortes telles que la prédation et la compétition. Les deux prédictions sont susceptibles d'être vraies mais l'on peut tout de même être surpris que cela ressorte à ce point. Cela démontre que le métabarcodage est un outil puissant pour la surveillance environnementale, même s'il ne capture qu'une fraction de la biodiversité globale (surtout avec le marqueur COI). En effet, bien que les amorces PCR de métabarcodage COI aient été optimisées par des travaux antérieurs pour amplifier les métazoaires, elles détectent de nombreux autres eucaryotes, y compris des organismes photosynthétiques et unicellulaires, et bien qu'elles en manquent probablement la plupart, et bien que ceux-ci ne soient pas identifiés à un rang taxonomique fin, ils donnent une description beaucoup plus représentative écologiquement de la communauté que les métazoaires seuls, et comme le suggèrent les données actuelles, que le métabarcodage 16S ne parvient pas à fournir. Nos données plaident en faveur de la généralisation de l'utilisation du COI dans le métabarcodage environnemental. Habituellement, les études de métabarcodage utilisaient le 16S pour les eucaryotes et le 18S pour les métazoaires, car le 18S est encore bien plus universel que le COI pour réussir l'amplification par PCR des taxons animaux et sa base de données de barcodes était plus complète (Casey *et al.*, 2021). Ici, nous montrons que le COI est très efficace pour révéler des communautés correspondant à différentes conditions environnementales tout en distinguant parmi les sous-réseaux qui sont seulement partiellement isolés hydrologiquement.

Dans Chott Ech Chergui, les communautés aquatiques sont plus diversifiées que celles des sédiments, contrairement aux études antérieures

La communauté bactérienne (telle que révélée par le 16S) et la communauté eucaryote (telle que, bien que partiellement, révélée par le COI) dans l'eau présentaient une plus

grande diversité de mOTUs par rapport aux assemblages biologiques des sédiments. Ces résultats diffèrent des études précédentes menées en milieu marin par Kerrigan et al. (2019) et en zones humides par Zhang et al. (2021), qui ont trouvé une similarité en termes de richesse entre l'eau et les sédiments, ou encore par Palacios-Mejia et al. (2020) dans les sources du désert, qui ont trouvé une moindre diversité dans l'eau et ont suggéré que cela pourrait s'expliquer par la liaison de l'ADN environnemental aux sédiments et par une dégradation plus rapide de l'ADN dans l'eau. Il est donc intéressant de constater que nous avons obtenu le résultat opposé pour les deux marqueurs. Moins surprenant, nous avons également constaté des différences significatives dans les compositions de communautés entre les sites et les mois au niveau de l'eau pour les deux marqueurs (16S et COI). Jiang et al. (2006) ont souligné une différence dans la structure et la répartition des communautés entre les sédiments et l'eau d'un lac hypersalin, suggérant que ces différences pourraient être corrélées à un gradient de caractéristiques géochimiques, indiquant une plus grande différence dans la distribution des communautés bactériennes dans les sédiments que dans l'eau.

La diversité inconnue des eucaryotes doit être décrite

Le métabarcodage COI dans cet environnement extrême a révélé que la plage de distribution géographique connue est plus étendue que ce qui était précédemment estimé pour plusieurs espèces détectées par le métabarcodage, selon les enregistrements de la base de données GBIF. Cela reflète le fait que notre zone d'étude se trouve dans une région peu étudiée et cela confirme l'idée de départ de ce projet que l'étude de cette zone apporterait de nouvelles connaissances de biodiversité à la science.

Cela deviendrait une connaissance effective pour la communauté scientifique après avoir signalé leur occurrence géographique dans la base de données GBIF, mais cela pourrait ne pas être réalisable étant donné que nous ne fournissons ici que des preuves de métabarcodage et non des observations conventionnelles. Cependant, notre protocole de métabarcodage est extrêmement robuste et conçu, du laboratoire aux analyses bioinformatiques, pour minimiser les faux positifs (c'est-à-dire signaler des taxons qui n'étaient pas réellement présents mais résulteraient de contaminations, d'artefacts de biologie moléculaire ou d'erreurs d'assignation bioinformatiques) (Corse et al 2017, Gonzalez et al 2023). Nous sommes donc plutôt confiants que ces espèces, non étudiées

dans notre laboratoire et donc peu susceptibles de résulter de contaminations lors des expériences de biologie moléculaire, étaient effectivement présentes dans cette zone humide désertique en Algérie.

Ainsi, le COI a facilité l'acquisition de nouvelles connaissances sur la distribution et la présence de ces espèces (Elbrecht and Leese, 2015; Macher *et al.*, 2021).

Parmi les espèces de métazoaires détectées, certaines sont utiles ou nuisibles aux populations humaines. Certains organismes, comme *Heterocypris salina,* un crustacé ostracode, servent de bioindicateurs de la salinité dans les environnements d'eau douce. Ils peuvent tolérer une large gamme de conditions d'eau, y compris de faibles niveaux d'oxygène et une salinité élevée allant de 0 à 100 ppt (Gusakov et al., 2021).

Ainsi, les connaissances biogéographiques et écologiques bénéficieraient grandement des inventaires de biodiversité dans cette région. De telles expéditions scientifiques devraient être associées à des projets de barcodage visant à séquencer les régions COI à partir d'échantillons identifiés taxonomiquement. Cela compléterait les bases de données de codes-barres COI qui semblent particulièrement pauvres pour cette faune continentale particulière, car la proportion de mOTU non assignés était similaire ou même pire que pour les espèces marines, connues pour être élevée (Mugnai et al., 2021).

Diversité des extrêmophiles au niveau du Chott Ech Chergui

Nos résultats ont montré que Chott Ech Chergui présente une importante diversité de prokaryotes que l'on retrouve dans des environnements extrêmes de différentes régions géographiques (Egamberdieva *et al.*, 2018; Merino *et al.*, 2019).

Il est remarquable de constater la prédominance des phylums des Protéobactéries et des Bacteroidetes dans notre jeu de données. Cette observation est cohérente avec les résultats d'autres études portant sur des environnements extrêmes, telles que celles menées sur la mer Morte (Jacob et al., 2017), la lagune de Tirez en Espagne (Montoya et al., 2013), le lac Tebenquichi au Chili (Demergasso et al., 2008), les lacs de soude en Russie (Vavourakis et al., 2016), l'oasis de Siwa dans le désert occidental en Égypte (Elsaied *et al.*, 2022) et le lac salé Chott el Jerid en Tunisie (Ben Abdallah et al., 2020).

La prédominance des Protéobactéries, peut s'expliquer par le fait qu'elles regroupent un grand nombre d'isolats et de génomes séquencés parmi les phyla procaryotes notamment des bactéries extrêmophiles . Leur présence dans l'environnemnt est importante car elles

jouent des rôles divers dans les cycles du carbone, de l'azote et du soufre en raison de leur expression génétique étendue (Abdelshafy Mohamad et al., 2018).

Dans notre étude, l'échelle temporelle nous laisse suggérer que la composition de la communauté est sous influence principalement de l'aridité, avec l'augmentation de la température et la faible pluviométrie, le niveau de l'eau baisse, l'eau se concentre en éléments chimiques et surtout en sels, ce qui se traduit par une augmentation des abondances et un changement de la composition de la communauté. Ce phénomène se produit plusieurs fois par an et conduit à la détection de mOTUs archéens et bactériens qui ne se sont produits qu'une seule fois dans tous les écosystèmes au cours du suivi.

Le domaine Archaea représente les principales populations microbiennes dans les environnements halophiles extrêmes, à l'exception de certaines bactéries telles que *Salinibacter* isolées à partir de nos échantillons (Woese *et al.*, 1990; Mehirou Zouggar *et al.*, 2023), car la salinité est un facteur crucial qui influence la biodiversité, les adaptations, la composition des communautés et les interactions trophiques dans les environnements aquatiques (Saccò et al., 2021). Dans nos données de métabarcodage nous avons identifié la présence d'archées extrêmement halophiles appartenant au phylum Euryarchaeota, classe Halobacteria, comprenant deux ordres : Halobacteriales et Haloferacale, ainsi que deux famille, les Halobacteriaceae et les Haloferacaceae, que l'on retrouve également dans d'autres environnements extrêmophiles hypersalins (Jiang et al., 2018, 2006 ; Leoni et al., 2020). Ces résultats renforcent l'étude de (Garrity *et al.*, 2001; Grant, 2004) qui souligne que les archées halophiles extrêmes sont principalement classées dans le phylum Euryarchaeota , à la classe Halobacteria.

On constate que malgré le nombre de mOTUs et de lectures très faible d'archées par rapport aux bactéries, on retrouve dans nos données deux des trois ordre d'archées halophiles connues . En effet selon l'étude d' Oren, 2020, on compte jusqu'à 260 espèces d'archées halophiles regroupées en 70 genres dont trois ordres et six familles (ordre des Halobacteriales (familles Halobacteriaceae , Haloarculaceae et Halococcaceae), ordre des Haloferacale (familles Haloferacaceae et Halorubraceae) et l'ordre des Natrialbales (famille des Natrialbaceae)(Martínez *et al.*, 2022),

Les bactéries extrêmophiles que nous avons isolées et purifiées du Chott Ech Chergui et les données de métabarcodage obtenues à partir de cette zone humide, forment deux ensembles de données qui se complètent car les souches isolées appartiennent à d'autres genres de Protéobactéries et de Firmicutes que ceux détectés par le biais du

métabarcodage. Cela peut s'expliquer par le nombre d'échantillons utilisés pour l'isolement, qui était plus élevé que celui utilisé pour le métabarcodage, les milieux de culture d'isolement et la méthode de culture des bactéries extrêmophiles, qui était plus adaptée aux bactéries facilement cultivables.

VI. Conclusion et Perspectives

À l'issue de cette étude, une vaste gamme de perspectives s'ouvre à nous, allant de la simple collecte d'individus pour les répertorier dans une banque de données par approche taxonomique classique combinée au barcodage, pour élargir les bases de données de codes-barres à l'utilisation de biomolécules issues des souches bactériennes isolées en biotechnologie. Ces opportunités promettent des avancées significatives dans la caractérisation de la biodiversité locale et offrent des applications potentielles dans le domaine de la biotechnologie, ouvrant la voie à des développements novateurs et durables.

Perspectives en microbiologie et biotechnologie

La caractérisation approfondie des bactéries extrêmophiles, telles que *Virgibacillus, Halomonas, Halobacter, Chromohalobacter, Bacillus, Exiguobacterium, Staphylococcus, Lysinibacillus*, et *Salinicola*, offre une opportunité unique de plonger dans les mécanismes d'adaptation exceptionnels de ces microorganismes aux conditions environnementales extrêmes. Ces investigations pourraient contribuer à la microbiologie environnementale, en éclairant les stratégies de survie mises en place par ces bactéries dans des milieux hostiles.

Les études métabolomiques et génomiques fonctionnelles pourraient jeter une lumière particulière sur les adaptations moléculaires qui permettent à ces bactéries de prospérer dans des environnements extrêmes. Comprendre ces mécanismes pourrait non seulement élargir notre compréhension de l'adaptation de la biodiversité, mais également ouvrir la voie à des applications pratiques dans différents domaines.

En outre, par leurs capacités exceptionnelles à dégrader certaines molécules dans des environnements extrêmes, ces bactéries pourraient être des acteurs clés en bioremédiation. Des exemples notables incluent les halophiles, comme le genre *Halomonas, Virgibacillus* ou *Bacillus*, qui ont démontré leur efficacité dans la dégradation des hydrocarbures, offrant ainsi des perspectives prometteuses pour

atténuer les impacts de la pollution pétrolière. De plus, certaines de ces bactéries ont également démontré des capacités antibactériennes, suggérant un potentiel dans le développement d'agents antimicrobiens.

Enfin, ces microorganismes extrêmophiles pourraient servir de sources riches en enzymes d'intérêt industriel. Leur capacité à fonctionner dans des conditions extrêmes pourrait rendre les enzymes qu'ils produisent particulièrement robustes et efficaces, ouvrant de nouvelles possibilités pour des applications industrielles variées, de la production d'enzymes alimentaires à la bio-industrie.

Utilisation d'autres marqueurs

Les premiers résultats de cette recherche nous poussent à envisager l'exploration d'autres marqueurs génétiques afin d'approfondir la caractérisation de la diversité biologique. Il serait ainsi intéressant de se porter sur le gène 18S, qui sert à l'identification des microorganismes eucaryotes, en particulier dans les études de biodiversité des protistes et des microalgues pour lesquels les marqueurs 16S et COI ne sont pas universels (en raison de souci d'amplification par PCR d'une zone trop variable pour définir des amorces PCR vraiment universelles pour ces grands groupes). De même, nous pourrions nous pencher sur l'ITS, utile à la caractérisation des champignons et des microorganismes eucaryotes. Enfin, nous pourrions aussi explorer le gène matK qui est utilisé dans l'identification des plantes, en raison de sa variabilité génétique significative permettant de discriminer entre différentes espèces végétales.
L'utilisation de marqueurs spécifiques pour les gènes fonctionnels pourrait fournir des indications sur les fonctions métaboliques présentes dans cet environnement extrême.

Recherche des microalgues extrêmes et valorisation

Les observations microscopiques, les identifications de microalgues, ainsi que la mise en évidence des capacités de certaines de ces microalgues en tant qu'organismes photosynthétiques capables de dégrader des éléments métalliques, constituent une composante essentielle de cette recherche Les résultats préliminaires suggèrent un rôle potentiellement crucial de ces microorganismes dans l'écosystème étudié.
De plus, il est important de souligner que certains de ces microorganismes présentent également une grande teneur en lipides, protéines et caroténoïdes. Cette caractéristique

ajoute une dimension supplémentaire à leur valeur, ouvrant des perspectives intéressantes pour leur utilisation potentielle dans divers domaines, tels que la production de biocarburants, les compléments alimentaires et d'autres applications biotechnologiques.

Cette étude ne se limite pas à une simple exploration approfondie d'une zone humide extrême ; elle ouvre également la voie à des découvertes passionnantes dans les domaines de la microbiologie, de la biotechnologie et de la valorisation durable des ressources naturelles. Elle constitue une plateforme fondamentale, le point de départ d'un chemin très varié et extrêmement riche en recherches fascinantes. Parallèlement, elle souligne l'importance cruciale des zones humides et le devoir de sensibiliser les gens à respecter ces écosystèmes. Sensibiliser les populations locales est essentiel pour préserver ces zones humides, qui jouent un rôle vital dans la vie de la région et de ses habitants autochtones.

- # Perspectives

Concernant les microalgues

L'utilisation de nanoparticules d'oxyde de cuivre (CuO NPs) a augmenté de façon exponentielle dans diverses applications (telles que les catalyseurs industriels, les capteurs de gaz, les matériaux électroniques, les biomédicaments, l'assainissement de l'environnement). Ces applications larges ont cependant augmenté l'exposition humaine et donc le risque lié à leur toxicité à court et à long terme. Leur rejet dans l'environnement a suscité une attention considérable qui est devenue un domaine de recherche et développement éminent. La littérature démontre que l'exposition des CuO NPs aux systèmes vivants entraîne la génération d'espèces réactives de l'oxygène, un stress oxydatif, une inflammation, une cytotoxicité, une génotoxicité et une immunotoxicité(Naz *et al.*, 2019). Une des pistes prometteuses pour mes recherches futures consiste à explorer davantage la capacité de mes microalgues à éliminer le cuivre (CuO). Forte de mes observations sur la tolérance au cuivre de mes microalgues, je suis particulièrement intéressée par la possibilité de tester leur efficacité dans la détoxification de (CuO NPs). Parmi l'ensemble de mes souches, les résultats préliminaires suggèrent que des espèces

comme *Desmodesmus* présentent une croissance significative, comparable voire supérieure au témoin, même en présence de cuivre. Cette capacité potentielle à prospérer malgré la présence de cet élément toxique ouvre des perspectives prometteuses pour l'utilisation de ces microalgues dans des applications de phytoremédiation, visant à dépolluer les milieux contaminés par les (Cu NPs). Cette direction de recherche offre ainsi la possibilité d'explorer des solutions écologiques pour la gestion des polluants métalliques.

Concernant les bactéries extrêmophiles

1. Séquençage du génome total des souches potentielles de nouvelles espèces du genre *Bacillus* (GQ407241.1) et *Chromohalobacter* (AB681757.1)

Les tests préliminaires ont révélé des résultats prometteurs pour ces souches, suggérant qu'elles pourraient appartenir à de nouvelles espèces. Pour approfondir notre compréhension, il est essentiel de procéder au séquençage complet de leur génome. De plus, des tests physicochimiques approfondis sont nécessaires pour obtenir des informations détaillées sur ces espèces, ce qui pourrait jouer un rôle crucial dans leur caractérisation.

2. Caractérisation de *Staphylococcus haemolyticus* (MN581168.1) en tant qu'espèce thermophile productrice de l'enzyme lipase

Nos tests préliminaires ont démontré la capacité de *Staphylococcus haemolyticus* à produire de la lipase à des températures supérieures à 60°C. Nous envisageons une approche complète, impliquant la production de cette enzyme en bioréacteur, suivie de sa purification par dialyse sur une colonne de Sephadex G-100. La caractérisation ultérieure impliquera des études approfondies, telles que l'effet des éléments métalliques (Cu, Mg) sur son activité, la détermination de la gamme optimale de pH et de température, ainsi que l'utilisation de la RMN pour visualiser la structure tridimensionnelle de l'enzyme.

3. Étude de la production d'AgNPs et de l'activité antibactérienne

En suivant les protocoles décrits dans l'étude de (Dev *et al.*, 2021), nous pourrions explorer la capacité de la souche *Exiguobacterium profundum* que nous avons isolée à produire des nanoparticules d'argent (AgNPs). Ce volet a un intérêt particulier en raison de la potentialité de ces bactéries à être utilisées dans la bioremédiation par la dégradation de divers colorants fréquemment employés au sein du laboratoire. Cela allège significativement la charge environnementale du laboratoire, où ces colorants sont souvent utilisés pour des applications telles que la coloration des parois cellulaires des spores, le dosage des protéines, et d'autres procédés, notamment avec des colorants tels que le bleu de méthylène, le vert malachite, le rouge Congo, le violet cristal, le brillant Coomassie, le bleu de méthyle, le rouge de méthyle. Une fois ces protocoles optimisés, nous étendrons ces tests aux autres souches.

Ces axes de recherche visent à approfondir notre compréhension des caractéristiques et des applications potentielles des souches bactériennes extrêmophiles. Nous sommes impatients de partager les résultats de ces travaux au fur et à mesure de leur avancement.

References

Abaramak, G., Kırtel, O., and Toksoy Öner, E. (2020) Chapter 9 - Fructanogenic halophiles: a new perspective on extremophiles. In *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*. Salwan, R. and Sharma, V. (eds). Academic Press, pp. 123–130.

Abdelshafy Mohamad, O. A., Li, L., Ma, J. B., Hatab, S., Rasulov, B. A., Musa, Z., ... & Li, W. J. (2018). Halophilic Actinobacteria biological activity and potential applications. Extremophiles in Eurasian ecosystems: ecology, diversity, and applications, 333-364

Alexander, D.E. (1999a) Biological diversity (biodiversity). In *Environmental Geology*. Encyclopedia of Earth Science. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 46–51.

Alexander, D.E. (1999b) Biological diversity (biodiversity). In *Environmental Geology*. Encyclopédie des sciences de la Terre. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 46–51.

Amin, A., Ahmed, I., Khalid, N., Zhang, Y., Xiao, M., & Li, W. J. (2018). Insights into the thermophile diversity in hot springs of Pakistan. Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications, 1-28.

Aoudia, M., Issaadi, A., Bersi, M., Maizi, D., and Saibi, H. (2020) Aquifer characterization using vertical electrical soundings and remote sensing: A case study of the Chott Ech Chergui Basin, Northwest Algeria. *J Afr Earth Sci* **170**: 103920.

Apprill, A., McNally, S., Parsons, R., & Weber, L. (2015). Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. Aquatic Microbial Ecology, 75(2), 129-137.

Arabi, Z. and Mederbal, K. (2016) Intégration des données multi-sources dans un Système d'Information Géographique pour l'étude de la diversité floristique au niveau de la zone humide du Chott Ech Chergui, Saida. **01**: 7.

Arbab, S., Ullah, H., Khan, M.I.U., Khattak, M.N.K., Zhang, J., Li, K., and Hassan, I.U. (2022) Diversity and distribution of thermophilic microorganisms and their applications in biotechnology. *J Basic Microbiol* **62**: 95–108.

Bang, C., Dagan, T., Deines, P., Dubilier, N., Duschl, W.J., Fraune, S., et al. (2018) Metaorganisms in extreme environments: do microbes play a role in organismal adaptation? *Zoology* **127**: 1–19.

Barnes, M.A. and Turner, C.R. (2016) The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conserv Genet* **17**: 1–17.

Barreto, C. and Lindo, Z. (2022) Response of soil biodiversity to global change. *Pedobiologia* **90**: 150792.

Bates, B., Kundzewicz, Z.W., Palutikof, J., and Wu, S. Le changement climatique et l'eau.

Belilla, J., David Moreira, Ludwig Jardillier, Guillaume Reboul, Benzerara, K., López-García, J.M., et al. (2019) Hyperdiverse archaea near life limits at the polyextreme geothermal Dallol area. *Nat Ecol Evol* **3**: 1552–1561.

Ben Abdallah, M., Karray, F., and Sayadi, S. (2020) Production of Polyhydroxyalkanoates by Two Halophilic Archaeal Isolates from Chott El Jerid Using Inexpensive Carbon Sources. *Biomolecules* **10**: 109.

Benkhettou, A., Taïbi, K., Benkhettou, M. et al. Assessment of floristic diversity in the arid steppe region of Tiaret, Algeria. Trop Ecol 63, 463–479 (2022). https://doi.org/10.1007/s42965-022-00226-0

Berenguer, J. (2011) Hyperthermophile. In *Encyclopedia of Astrobiology*. Gargaud, M., Amils, R., Quintanilla, J.C., Cleaves, H.J. (Jim), Irvine, W.M., Pinti, D.L., and Viso, M. (eds). Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 796–799.

Bergey, D. H. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Lippincott Williams & Wilkins.

Berlemont, R. and Gerday, C. (2011) 1.16 - Extremophiles. In *Comprehensive Biotechnology (Third Edition)*. Moo-Young, M. (ed). Oxford: Pergamon, pp. 203–216.

Berry, O., Jarman, S., Bissett, A., Hope, M., Paeper, C., Bessey, C., et al. (2021) Making environmental DNA (eDNA) biodiversity records globally accessible. *Environ DNA* **3**: 699–705.

Bhattacharya, A., Goyal, N., and Gupta, A. (2017) Degradation of azo dye methyl red by alkaliphilic, halotolerant Nesterenkonia lacusekhoensis EMLA3: application in alkaline and salt-rich dyeing effluent treatment. *Extremophiles* **21**: 479–490.

Biodiversity, N.R.C. (US) C. on N. and E.V. of (1999) What is Biodiversity?, National Academies Press (US).

Bodelier, P.L.E. and Dedysh, S.N. (2013) Microbiology of wetlands. *Front Microbiol* **4**: 79.

Bogan, M.T., Boersma, K.S., and Lytle, D.A. (2015) Resistance and resilience of invertebrate communities to seasonal and supraseasonal drought in arid-land headwater streams. *Freshw Biol* **60**: 2547–2558.

Bouchraki, F., Chabour, S., Hamchaoui, S., and Promoteur (2016) Etude du systeme de production d'eau potable ain skhouna et alimentation en eau potable de la ville didouche mourad wilaye de constantine.

Boyadzhieva, I., Tomova, I., Radchenkova, N., Kambourova, M., Poli, A., & Vasileva-Tonkova, E. (2018). Diversity of heterotrophic halophilic bacteria isolated from coastal solar salterns, Bulgaria and their ability to synthesize bioactive molecules with biotechnological impact. Microbiology, 87, 519-528.

Boyle, J., Speroff, T., Worley, K., Cao, A., Goggins, K., Dittus, R.S., and Kripalani, S. (2017) Low Health Literacy Is Associated with Increased Transitional Care Needs in Hospitalized Patients. *J Hosp Med* **12**: 918–924.

Brandt, M. I., Pradillon, F., Trouche, B., Henry, N., Liautard-Haag, C., Cambon-Bonavita, M. A., ... & Zeppilli, D. (2021). Evaluating sediment and water sampling methods for the estimation of deep-sea biodiversity using environmental DNA. Scientific Reports, 11(1), 7856.

Brinson, M.M. (2011) Classification of Wetlands. In *Wetlands: Integrating Multidisciplinary Concepts*. LePage, B.A. (ed). Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 95–113.

Brock, M.A., Nielsen, D.L., and Crosslé, K. (2005) Changes in biotic communities developing from freshwater wetland sediments under experimental salinity and water regimes. *Freshw Biol* **50**: 1376–1390.

Butchart, S.H.M., Walpole, M., Collen, B., van Strien, A., Scharlemann, J.P.W., Almond, R.E.A., et al. (2010) Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines. *Science* **328**: 1164–1168.

Cadotte, M.W., Carscadden, K., and Mirotchnick, N. (2011) Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *J Appl Ecol* **48**: 1079–1087.

Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., et al. (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **486**: 59–67.

Casanova, M.T. and Brock, M.A. (2000) How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities? *Plant Ecol* **147**: 237–250.

Casey, J.M., Ransome, E., Collins, A.G., Mahardini, A., Kurniasih, E.M., Sembiring, A., et al. (2021) DNA metabarcoding marker choice skews perception of marine eukaryotic biodiversity. *Environ DNA* **3**: 1229–1246.

Cayol, J.L., Ollivier, B., Alazard, D., Amils, R., Godfroy, A., Marty, D., et al. (2012) Les conditions de vie extrêmes sur la planète et exobiologie.

Çelik, I. and Keskin, E. (2022) Revealing the Microbiome of Four Different Thermal Springs in Turkey with Environmental DNA Metabarcoding. *Biology* **11**: 998.

Cherry, J. A. (2011) Ecology of Wetland Ecosystems: Water, Substrate, and Life. Nature Education Knowledge 3(10):16

Chénard, C. and Lauro, F.M. eds. (2017) Microbial Ecology of Extreme Environments, Cham: Springer International Publishing.

Clausen, B. and Biggs, B. (1997) Relationships between benthic biota and hydrological indices in New Zealand streams. *Freshw Biol* **38**: 327–342.

Coker, J.A. (2016) Extremophiles and biotechnology: current uses and prospects. *F1000Research* **5**: F1000 Faculty Rev-396.

Collins, C. H., & Lyne, P. M. (1995). Microbiological methods. Microbiological methods., (3rd. Edition).

Corse, E., Meglécz, E., Archambaud, G., Ardisson, M., Martin, J. F., Tougard, C., ... & Dubut, V. (2017). A from-benchtop-to-desktop workflow for validating HTS data and for taxonomic identification in diet metabarcoding studies. Molecular Ecology Resources, 17(6), e146-e159.

Cowardin, L.M., Fish, U.S., Carter, V., and Golet, F.C. CLASSIFICATION OF WETLANDS AND DEEPWATER HABITATS OF THE UNITED STATES.

Cronk, J.K. and Fennessy, M.S. (2001) Wetland Plants: Biology and Ecology, Boca Raton: CRC Press.

Cui, Y.-W., Zhang, H.-Y., Ding, J.-R., and Peng, Y.-Z. (2016) The effects of salinity on nitrification using halophilic nitrifiers in a Sequencing Batch Reactor treating hypersaline wastewater. *Sci Rep* **6**: 24825.

Dalmaso, G.Z.L., Ferreira, D., and Vermelho, A.B. (2015) Marine Extremophiles: A Source of Hydrolases for Biotechnological Applications. *Mar Drugs* **13**: 1925–1965.

Daoud, L. and Ben Ali, M. (2020) Chapter 5 - Halophilic microorganisms: Interesting group of extremophiles with important applications in biotechnology and environment. In *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*. Salwan, R. and Sharma, V. (eds). Academic Press, pp. 51–64.

Davidson, N.C., Fluet-Chouinard, E., Finlayson, C.M., Davidson, N.C., Fluet-Chouinard, E., and Finlayson, C.M. (2018) Global extent and distribution of wetlands: trends and issues. *Mar Freshw Res* **69**: 620–627.

Demergasso, C., Escudero, L., Casamayor, E. O., Chong, G., Balagué, V., & Pedrós-Alió, C. (2008). Novelty and spatio–temporal heterogeneity in the bacterial diversity of hypersaline Lake Tebenquiche (Salar de Atacama). Extremophiles, 12, 491-504

De Boeck, G., Wood, C., Brix, K., Sinha, A., Matey, V., Johannsson, O., et al. (2019) Fasting in the ureotelic Lake Magadi tilapia, Alcolapia grahami, does not reduce its high metabolic demand, increasing its vulnerability to siltation events. *Conserv Physiol* **7**:.

De Martonne, E. (1926). Aerisme, et índices d'aridite. Comptesrendus de L'Academie des Sciences , 182 , 1395–1398.

Dev, S., James, G., and Santhosh, C. (2021) Green synthesis of silver nanoparticles by Exiguobacterium profundum isolated from carpet industry effluent. *Res J Chem Environ* **25**: 9–14.

Diaz, S., Lavorel, S., Chapin III, F.S., Tecco, P., Gurvich, D., and Grigulis, K. (2007) Functional Diversity — at the Crossroads between Ecosystem Functioning and Environmental Filters. In *Terrestrial Ecosystems in a Changing World*. pp. 81–91.

Dziak, J. J., Coffman, D. L., Lanza, S. T., Li, R., & Jermiin, L. S. (2020). Sensitivity and specificity of information criteria. Briefings in bioinformatics, 21(2), 553-565.

Ecology of Wetland Ecosystems: Water, Substrate, and Life | Learn Science at Scitable.

Edwards, C. (1990) Microbiology of Extreme Environments, McGraw-Hill.

Egamberdieva, D., Birkeland, N.-K., Panosyan, H., and Li, W.-J. eds. (2018) Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications, Singapore: Springer.

Elazzazy, A. M., Abdelmoneim, T. S., & Almaghrabi, O. A. (2015). Isolation and characterization of biosurfactant production under extreme environmental conditions by alkali-halo-thermophilic bacteria from Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(4), 466-475.

Elbrecht, V. and Leese, F. (2015) Can DNA-Based Ecosystem Assessments Quantify Species Abundance? Testing Primer Bias and Biomass--Sequence Relationships with an Innovative Metabarcoding Protocol. *PloS One* **10**: e0130324.

Elodie (2021) Les fonctions hydrologiques, biogéochimiques et biologiques des zones humides. *Creseb Bretagne*.

Elsaied, H., Soliman, T., Siam, R., Saad Abdelkarim, M., and Sonbol, S. (2022) Differential rRNA gene metabarcoding of prokaryotic consortia in desert athalassohaline and thalassohaline brines. *Egypt J Aquat Res* **48**: 223–231.

Erktan, A., Coq, S., Blanchart, E., Chevallier, T., Trap, J., Bernard, L., et al. (2022) Biodiversité et structure physique des sols : une vision spatialisée du fonctionnement des sols. *Etude Gest Sols* **29**: 153.

Faure, D. and Joly, D. (2016) La génomique environnementale: La révolution du séquençage à haut débit, ISTE Group.

Floc'h, E.L. ed. (1992) L'aridité: une contrainte au développement: caractérisation, réponses biologiques, stratégies des sociétés, Paris: Editions de l'ORSTOM.

Fluet-Chouinard, E., Lehner, B., Rebelo, L.-M., Papa, F., and Hamilton, S.K. (2015) Development of a global inundation map at high spatial resolution from topographic downscaling of coarse-scale remote sensing data. *Remote Sens Environ* **158**: 348–361.

Fluet-Chouinard, E., Stocker, B.D., Zhang, Z., Malhotra, A., Melton, J.R., Poulter, B., et al. (2023a) Extensive global wetland loss over the past three centuries. *Nature* **614**: 281–286.

Fluet-Chouinard, E., Stocker, B.D., Zhang, Z., Malhotra, A., Melton, J.R., Poulter, B., et al. (2023b) Extensive global wetland loss over the past three centuries. *Nature* **614**: 281–286.

François, P. (2016) Code-barres ADN pour caractériser la biodiversité. *Encycl Environ*.

Gardner, R.C. and Finlayson, M. (2018) Global wetland outlook: State of the world's wetlands and their services to people 2018, Switzerland: Secretariat of the Ramsar Convention.

Garrity, G.M., Holt, J.G., Whitman, W.B., Keswani, J., Boone, D.R., Koga, Y., et al. (2001) Phylum All. Euryarchaeota phy. nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume One : The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. Boone, D.R., Castenholz, R.W., and Garrity, G.M. (eds). New York, NY: Springer, pp. 211–355.

Gavrilescu, M. (2010). Environmental biotechnology: achievements, opportunities and challenges. Dynamic biochemistry, process biotechnology and molecular biology, 4(1), 1-36.

Gerasimova, E.A., Balkin, A.S., Filonchikova, E.S., Mindolina, Y.V., Zagumyonnyi, D.G., and Tikhonenkov, D.V. (2023) Taxonomic Structure of Planktonic Protist Communities in Saline and Hypersaline Continental Waters Revealed by Metabarcoding. *Water* **15**: 2008.

Gómez, F. (2011) Extreme Environment. In *Encyclopedia of Astrobiology*. Gargaud, M., Amils, R., Quintanilla, J.C., Cleaves, H.J. (Jim), Irvine, W.M., Pinti, D.L., and Viso, M. (eds). Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 570–572.

González, A., Dubut, V., Corse, E., Mekdad, R., Dechatre, T., Castet, U., ... & Meglécz, E. (2023). VTAM: A robust pipeline for validating metabarcoding data using controls. Computational and Structural Biotechnology Journal, 21, 1151-1156.

Gouasmia, G., Amarouayache, M., Frihi, H., & Kara, M. H. (2016). Caractérisation physico-chimique de trois lacs salés permanents de la vallée d'Oued Righ (Sahara septentrional, Algérie nord-est). Revue d'Ecologie, Terre et Vie, 71(4), 330-341.

Grant, W.D. (2004) Introductory Chapter: Half a Lifetime in Soda Lakes. In *Halophilic Microorganisms*. Ventosa, A. (ed). Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 17–31.

Guillard, R.R. and Ryther, J.H. (1962) Studies of marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt, and Detonula confervacea (cleve) Gran. *Can J Microbiol* **8**: 229–239.

Gusakov, V. A., Makhutova, O. N., Gladyshev, M. I., Golovatyuk, L. V., & Zinchenko, T. D. (2021). Ecological role of Cyprideis torosa and Heterocypris salina (Crustacea, Ostracoda) in saline rivers of the Lake Elton basin: abundance, biomass, production, fatty acids. Zoological Studies, 60.

Gxokwe, S., Dube, T., and Mazvimavi, D. (2020) Multispectral Remote Sensing of Wetlands in Semi-Arid and Arid Areas: A Review on Applications, Challenges and Possible Future Research Directions. *Remote Sens* **12**: 4190.

Hall, T., Biosciences, I., & Carlsbad, C. J. G. B. B. (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. GERF Bull Biosci, 2(1), 60-61.

Hardy, O.J. (2008) Testing the spatial phylogenetic structure of local communities: statistical performances of different null models and test statistics on a locally neutral community. *J Ecol* **96**: 914–926.

Hazzab, A. (2011). Eaux minérales naturelles et eaux de sources en Algérie. Comptes rendus. Géoscience, 343(1), 20-31.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., and deWaard, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci* **270**: 313–321.

HOLLIS, G.E. (1990) Environmental impacts of development on wetlands in arid and semi-arid lands. *Hydrol Sci J* **35**: 411–428.

Horikoshi, K. (1999) Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR* **63**: 735–750, table of contents.

Hou, Y., Zhang, R., Yu, Z., Huang, L., Liu, Y., and Zhou, Z. (2017) Accelerated azo dye degradation and concurrent hydrogen production in the single-chamber photocatalytic microbial electrolysis cell. *Bioresour Technol* **224**: 63–68.

IPBES (2018) The IPBES assessment report on land degradation and restoration., Zenodo.

Islam, M.R. and Schulze-Makuch, D. (2007) Adaptations to environmental extremes by multicellular organisms. *Int J Astrobiol* **6**: 199–215.

Jacob, J.H., Hussein, E.I., Shakhatreh, M.A.K., and Cornelison, C.T. (2017) Microbial community analysis of the hypersaline water of the Dead Sea using high-throughput amplicon sequencing. *MicrobiologyOpen* **6**: e00500.

Jiang H, Dong H, Zhang G, Yu B, Chapman LR, Fields MW. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. Appl Environ Microbiol. 2006 Jun;72(6):3832-45. doi: 10.1128/AEM.02869-05. Erratum in: Appl Environ Microbiol. 2006 Nov;72(11):7430. PMID: 16751487; PMCID: PMC1489620.

Jiang, H., Huang, J., Yang, J. (2018). Halotolerant and Halophilic Microbes and Their Environmental Implications in Saline and Hypersaline Lakes in Qinghai Province, China. In: Egamberdieva, D., Birkeland, NK., Panosyan, H., Li, WJ. (eds) Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications. Microorganisms for Sustainability, vol 8. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6_10

Jode, A. de, David, R., Dubar, J., Rostan, J., Guillemain, D., Sartoretto, S., et al. (2019) Community ecology of coralligenous assemblages using a metabarcoding approach. CAR/ASP Tunis, p. 41.

Jolly, I.D., McEwan, K.L., and Holland, K.L. (2008) A review of groundwater–surface water interactions in arid/semi-arid wetlands and the consequences of salinity for wetland ecology. *Ecohydrology* **1**: 43–58.

Kakkar, P. and Wadhwa, N. (2021) Extremozymes used in textile industry. *J Text Inst* **113**: 1–9.

Kbir-Ariguib, N., Chehimi, D. B. H., & Zayani, L. (2001). Treatment of Tunisian salt lakes using solubility phase diagrams. Pure and Applied Chemistry, 73(5), 761-770.

Keddy, P.A. (2010) Wetland Ecology: Principles and Conservation, Cambridge University Press.

Kerrigan, Z., Kirkpatrick, J. B., & D'Hondt, S. (2019). Influence of 16S rRNA hypervariable region on estimates of bacterial diversity and community composition in seawater and marine sediment. Frontiers in Microbiology, 10, 463904.

Khalid, A., Kausar, F., Arshad, M., Mahmood, T., and Ahmed, I. (2012) Accelerated decolorization of reactive azo dyes under saline conditions by bacteria isolated from Arabian seawater sediment. *Appl Microbiol Biotechnol* **96**: 1599–1606.

Kochhar, N., I.k, K., Shrivastava, S., Ghosh, A., Rawat, V.S., Sodhi, K.K., and Kumar, M. (2022) Perspectives on the microorganism of extreme environments and their applications. *Curr Res Microb Sci* **3**: 100134.

Kolka, R., Trettin, C., and Windham-Myers, L. (2021) The Importance of Wetland Carbon Dynamics to Society. In *Wetland Carbon and Environmental Management*. American Geophysical Union (AGU), pp. 421–436.

Krulwich, T.A. (2006) Alkaliphilic Prokaryotes. In *The Prokaryotes: Volume 2: Ecophysiology and Biochemistry*. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., and Stackebrandt, E. (eds). New York, NY: Springer, pp. 283–308.

Krulwich, T.A. and Guffanti, A.A. (1989) Alkalophilic Bacteria. *Annu Rev Microbiol* **43**: 435–463.

Kumar, S., Karan, R., Kapoor, S., Singh, S. P., & Khare, S. K. (2012). Screening and isolation of halophilic bacteria producing industrially important enzymes. Brazilian Journal of Microbiology, 43(4), 1595-1603. https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400044

Labidi, A. (2020) Dosage des Chlorures (Méthode de Mohr).

Lawson, C.E. and Lücker, S. (2018) Complete ammonia oxidation: an important control on nitrification in engineered ecosystems? *Curr Opin Biotechnol* **50**: 158–165.

Lawyer, F.C., Stoffel, S., Saiki, R.K., Myambo, K., Drummond, R., and Gelfand, D.H. (1989) Isolation, Characterization, and Expression in Escherichia coli of the DNA Polymerase Gene from Thermus aquaticus. *J Biol Chem* **264**: 6427–6437.

Lee, S. J., Lee, Y. J., Jeong, H., Lee, S. J., Lee, H. S., Pan, J. G., ... & Lee, D. W. (2012). Draft genome sequence of Virgibacillus halodenitrificans 1806.

Leoni, C., Volpicella, M., Fosso, B., Manzari, C., Piancone, E., Dileo, M.C.G., et al. (2020) A Differential Metabarcoding Approach to Describe Taxonomy Profiles of Bacteria and Archaea in the Saltern of Margherita di Savoia (Italy). *Microorganisms* **8**: 936.

Lepart, J. (1997) De la diversité spécifique à la biodiversité. Les raisons d'un succès. *For Méditerranéenne* **XVIII**: 4–10.

Lionelle, N.S.E. and Laura, N. (2020) Océans, mangroves et ressources marines: pour une filière de pêche artisanale durable en zone humide, IFDD.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., ... & Wardle, D. A. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. science, 294(5543), 804-808.

Loudière, D. and Gourbesville, P. (2020) Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau 2020 - L'eau et les changements climatiques. *Houille Blanche* 76–81.

Łubkowska, B., Jeżewska-Frąckowiak, J., Sobolewski, I., and Skowron, P.M. (2021) Bacteriophages of Thermophilic 'Bacillus Group' Bacteria—A Review. *Microorganisms* **9**: 1522.

Macher, T.-H., Beermann, A.J., and Leese, F. (2021) TaxonTableTools: A comprehensive, platform-independent graphical user interface software to explore and visualise DNA metabarcoding data. *Mol Ecol Resour* **21**: 1705–1714.

Maier, J., Kandelbauer, A., Erlacher, A., Cavaco-Paulo, A., and Gübitz, G.M. (2004) A New Alkali-Thermostable Azoreductase from Bacillus sp. Strain SF. *Appl Environ Microbiol* **70**: 837–844.

Malanson, G.P. and Alftine, K.J. (2023) Chapter 22 - Ecological impacts of climate change. In *Biological and Environmental Hazards, Risks, and Disasters (Second Edition)*. Hazards and Disasters Series. Sivanpillai, R. and Shroder, J.F. (eds). Boston: Elsevier, pp. 449–479.

Marcon, E. (2018) 3 Mesures neutres de la diversité \(\alpha\) ou \(\gamma\) | Mesures de la Biodiversité.

Margesin, R. and Schinner, F. (2001) Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area. *Appl Environ Microbiol* **67**: 3127–3133.

Martínez, G.M., Pire, C., and Martínez-Espinosa, R.M. (2022) Hypersaline environments as natural sources of microbes with potential applications in biotechnology: The case of solar evaporation systems to produce salt in Alicante County (Spain). *Curr Res Microb Sci* **3**: 100136.

Matsuno, T. and Yumoto, I. (2015) Bioenergetics and the Role of Soluble Cytochromes *c* for Alkaline Adaptation in Gram-Negative Alkaliphilic *Pseudomonas*. *BioMed Res Int* **2015**: e847945.

McMullin, E., Bergquist, D., and Fisher, C. (2000) Metazoans in extreme environments: adaptations of hydrothermal vent and hydrocarbon seep fauna. *Gravitational Space Biol Bull Publ Am Soc Gravitational Space Biol* **13**: 13–23.

McNeely, J.A. (2003) Biodiversity in arid regions: values and perceptions. *J Arid Environ* **54**: 61–70.

Mehirou Zouggar, A., Mirleau, P., Chenuil, A., Denis, F., Caruso, A., Ayad, S.M.E.A.A., and Lamara, S.A.C. (2023) Extreme and Heterogeneous Conditions of the Desert Wetland Chott Ech Chergui (Algeria) Allow Isolating Halophilic, Alkalophilic and Thermophilic Bacteria. *Wetlands* **43**: 108.

Mellado, M. and Vera, J. (2021) Microorganisms that participate in biochemical cycles in wetlands. *Can J Microbiol* **67**: 771–788.

Ménard, S. Régionalisation des habitats humides du Québec forestier méridional.

Menasria, T., Monteoliva-Sánchez, M., Benammar, L., Benhadj, M., Ayachi, A., Hacène, H., ... & Aguilera, M. (2019). Culturable halophilic bacteria inhabiting Algerian saline ecosystems: a source of promising features and potentialities. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 35, 1-16.

Merino, N., Aronson, H.S., Bojanova, D.P., Feyhl-Buska, J., Wong, M.L., Zhang, S., and Giovannelli, D. (2019) Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Front Microbiol* **10**: 780.

Mevada, V. A., Beladiya, U. H., Gandhi, H. R., Mangrola, A. V., & Patel, R. K. (2022). Alkalophiles: environmental distribution, taxonomy, physiology, bioenergetics, survival mechanism, and enzymes. In Physiology, Genomics, and Biotechnological Applications of Extremophiles (pp. 35-64). IGI Global.

Minckley, T.A., Turner, D.S., and Weinstein, S.R. (2013) The relevance of wetland conservation in arid regions: A re-examination of vanishing communities in the American Southwest. *J Arid Environ* **88**: 213.

Misra, A.K. and Tripathi, A. (2021) Mathematical Models of how the Transpiration Affects Rainfall through Agriculture Crops. *Environ Model Assess* **26**: 837–848.

Monk, W.A., Wood, P.J., Hannah, D.M., and Wilson, D.A. (2008) Macroinvertebrate community response to inter-annual and regional river flow regime dynamics. *River Res Appl* **24**: 988–1001.

Mugnai, F., Meglécz, E., CoMBoMed group, Costantini, F., Abbiati, M., Bavestrello, G., ... & Wangensteen, O. S. (2021). Are marine biodiversity hotspots still blackspots for barcoding?. bioRxiv, 2021-07.

Mugnai, F., Costantini, F., Chenuil, A., Leduc, M., Ortega, J.M.G., and Meglécz, E. (2023) Be positive: customized reference databases and new, local barcodes balance false taxonomic assignments in metabarcoding studies. *PeerJ* **11**:.

Nabagye, A. and Yatuha(Phd), J. (2022) Physico-chemical Parameters and Species' Distribution Patterns of Extremophilic Bacteria in Kitagata and Ihimbo Hot Springs in South Western Uganda. *Am Acad Sci Res J Eng Technol Sci* **86**: 157–173.

Narsing Rao, M. P., Liu, L., Jiao, J. Y., Xiao, M., & Li, W. J. (2018). Hot springs of India: occurrence and microbial diversity. Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications, 29-55.

Naz, S., Gul, A., and Zia, M. (2019) Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET Nanobiotechnol* **14**: 1–13.

NCWetlands-Wetland-water-cycle.png (926×602).

Orellana, R., Macaya Ramos, C., Bravo Cortes, G., Dorochesi, F., Cumsille, A., Valencia, R., et al. (2018a) Living at the Frontiers of Life: Extremophiles in Chile and Their Potential for Bioremediation. *Front Microbiol*.

Orellana, R., Macaya Ramos, C., Bravo Cortes, G., Dorochesi, F., Cumsille, A., Valencia, R., et al. (2018b) Living at the Frontiers of Life: Extremophiles in Chile and Their Potential for Bioremediation. *Front Microbiol*.

Oren, A. (2015) Halophilic microbial communities and their environments. *Curr Opin Biotechnol* **33**: 119–124.

Oren, A. (2008) Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Syst* **4**: 2.

Ouali, S., Hadjiat, M. M., Ait-Ouali, A., Salhi, K., & Malek, A. (2018). Cartographie et caractérisation des ressources géothermiques de l'Algérie. Journal of Renewable Energies, 21(1), 54-61.

Palacios Mejia, M., Curd, E., Edalati, K., Renshaw, M. A., Dunn, R., Potter, D., ... & Parker, S. S. (2021). The utility of environmental DNA from sediment and water samples for recovery of observed plant and animal species from four Mojave Desert springs. Environmental DNA, 3(1), 214-230.

Parada, A. E., Needham, D. M., & Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. Environmental microbiology, 18(5), 1403-1414.

Pawlowski, J., Apothéloz-Perret-Gentil, L., and Altermatt, F. (2020) Environmental DNA: What's behind the term? Clarifying the terminology and recommendations for its future use in biomonitoring. *Mol Ecol* **29**: 4258–4264.

Pawlowski, J., Bonin, A., Boyer, F., Cordier, T., and Taberlet, P. (2021) Environmental DNA for biomonitoring. *Mol Ecol* **30**: 2931–2936.

Pawlowski, J., Bruce, K., Panksep, K., Aguirre, F.I., Amalfitano, S., Apothéloz-Perret-Gentil, L., et al. (2022) Environmental DNA metabarcoding for benthic monitoring: A review of sediment sampling and DNA extraction methods. *Sci Total Environ* **818**: 151783.

Pereira, H.M., Navarro, L.M., and Martins, I.S. (2012) Global Biodiversity Change: The Bad, the Good, and the Unknown. *Annu Rev Environ Resour* **37**: 25–50.

Pham, V. H. T., Kim, J., Shim, J., Chang, S., & Chung, W. (2021). Purification and characterization of strong simultaneous enzyme production of protease and α-Amylase from an extremophile-Bacillus sp. FW2 and its possibility in food waste degradation. Fermentation, 8(1), 12.

Pinay, G., Gascuel, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Le Moal, M., Levain, A., et al. (2018) L'eutrophisation, éditions Quae.

Prasad, A.S.A. and Rao, K.V.B. (2013) Aerobic biodegradation of Azo dye by Bacillus cohnii MTCC 3616; an obligately alkaliphilic bacterium and toxicity evaluation of metabolites by different bioassay systems. *Appl Microbiol Biotechnol* **97**: 7469–7481.

Qiu, J., Han, R., & Wang, C. (2021). Microbial halophilic lipases: A review. Journal of Basic Microbiology, 61(7), 594-602.

Quels leviers pour la protection des zones humides ? | Auxilia Conseil.

Quérellou, J. and Guezennec, J. (2010) Biotechnologie des extrêmophiles. *Bioprocédés Bioprod*.

Quintero-Galvis, J.F., Saenz-Agudelo, P., Amico, G.C., Vazquez, S., Shafer, A.B.A., and Nespolo, R.F. (2022) Genomic diversity and demographic history of the Dromiciops genus (Marsupialia: Microbiotheriidae). *Mol Phylogenet Evol* **168**: 107405.

Rampelotto, P.H. (2013) Extremophiles and Extreme Environments. *Life* **3**: 482–485.

RamsarGWO_SpecialEdition2021–ENGLISH_WEB.pdf.

Rapport 2020 – L'eau et les changements climatiques.

Remini, B. (2010) LA PROBLEMATIQUE DE L'EAU EN ALGERIE DU NORD. *LARHYSS J P-ISSN 1112-3680 E-ISSN 2521-9782*.

Rodier, J., Legube, B., and Merlet, N. (2009) L'analyse de l'eau (9e édition), Le Hall du Livre NANCY.

Rodier, J., Legube, B., and Merlet, N. (2016) L'analyse de l'eau (10e édition), Le Hall du Livre NANCY.

Royal C. Gardner and and C. Max Finlayson ramsar_report.pdf.

Saccò, M., White, N. E., Harrod, C., Salazar, G., Aguilar, P., Cubillos, C. F., ... & Allentoft, M. E. (2021). Salt to conserve: a review on the ecology and preservation of hypersaline ecosystems. Biological Reviews, 96(6), 2828-2850.

Sahagian, D. and Melack, J. (1998) Global Wetland Distribution and Functional Characterization: Trace Gases and the Hydrologic Cycle. *UNT Digit Libr*.

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular biology and evolution, 4(4), 406-425.

Sandoval, L., Zamora-Castro, S.A., Vidal-Álvarez, M., and Marín-Muñiz, J.L. (2019) Role of Wetland Plants and Use of Ornamental Flowering Plants in Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: A Review. *Appl Sci* **9**: 685.

secretariat (2018) Assessment Report on Land Degradation and Restoration | IPBES secretariat.

Sene, E.H.M., Thiaw, I., and Lamizana-Diallo, B. (2006) Managing Wetlands in Arid Regions: Lessons Learned, IUCN.

Service, U.S.F. and W. and Cowardin, L.M. (1979) Classification of Wetlands and Deepwater Habitats of the United States, Fish and Wildlife Service, U.S. Department of the Interior.

Schultz, M., Tyrrell, T. D., & Ebenhard, T. (2016). The 2030 Agenda and Ecosystems-A discussion paper on the links between the Aichi Biodiversity Targets and the Sustainable Development Goals. SwedBio at Stockholm Resilience Centre, Stockholm, Sweden.

Singh, T., Awasthi, G., and Tiwari, Y. (2022) Recruiting endophytic bacteria of wetland plants to phytoremediate organic pollutants. *Int J Environ Sci Technol* **19**: 9177–9188.

Skopljak, F., Basagic, M., & Skripic, N. (2006). Hydrogeological characteristics of the „Olympija „source, Sarajevo. Materials and Geoenvironment, 53(4), 483.

Stetter, K.O. (2011) History of Discovery of Hyperthermophiles. In *Extremophiles Handbook*. Horikoshi, K. (ed). Tokyo: Springer Japan, pp. 403–425.

Swenson, N.G. (2011) Phylogenetic Beta Diversity Metrics, Trait Evolution and Inferring the Functional Beta Diversity of Communities. *PLoS ONE* **6**: e21264.

Takahashi, M., Saccò, M., Kestel, J.H., Nester, G., Campbell, M.A., van der Heyde, M., et al. (2023a) Aquatic environmental DNA: A review of the macro-organismal biomonitoring revolution. *Sci Total Environ* **873**: 162322.

Takahashi, M., Saccò, M., Kestel, J.H., Nester, G., Campbell, M.A., van der Heyde, M., et al. (2023b) Aquatic environmental DNA: A review of the macro-organismal biomonitoring revolution. *Sci Total Environ* **873**: 162322.

TEEB_WaterWetlands_ExecSum_2013-FR.pdf.

Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(30), 11030-11035.

Terpe, K. (2013) Overview of thermostable DNA polymerases for classical PCR applications: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems. *Appl Microbiol Biotechnol* **97**: 10243–10254.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., & Higgins, D. G. (2003). Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. Current protocols in bioinformatics, (1), 2-3.

Thomsen, P.F. and Willerslev, E. (2015) Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol Conserv* **183**: 4–18.

Tiegs, S., Costello, D., Isken, M., Woodward, G., Mcintyre, P., Gessner, M., et al. (2019) Global patterns and drivers of ecosystem functioning in rivers and riparian zones. *Sci Adv* **5**: eaav0486.

Tilman, D., Naeem, S., Knops, J., Reich, P., Siemann, E., Wedin, D., ... & Lawton, J. (1997). Biodiversity and ecosystem properties. Science, 278(5345), 1865-1869.

Tomas, C. R. (Ed.). (1997). Identifying marine phytoplankton. Elsevier

Typologie des zones humides de la convention de Ramsar | Zones Humides.

Urbieta, M.S., Donati, E.R., Chan, K.-G., Shahar, S., Sin, L.L., and Goh, K.M. (2015) Thermophiles in the genomic era: Biodiversity, science, and applications. *Biotechnol Adv* **33**: 633–647.

Vavourakis, C. D., Ghai, R., Rodriguez-Valera, F., Sorokin, D. Y., Tringe, S. G., Hugenholtz, P., & Muyzer, G. (2016). Metagenomic insights into the uncultured diversity and physiology of microbes in four hypersaline soda lake brines. Frontiers in microbiology, 7, 180500.

Villsen, K., Corse, E., Archambaud, G., Héran, K., Meglécz, E., Ereskovsky, A., et al. (2022) Diet Metabarcoding Reveals Extensive Dietary Overlap between Two Benthic Stream Fishes (Zingel asper and Cottus gobio) and Provides Insights into Their Coexistence. *Diversity*.

Wai Liew, C., Illias, R.Md., Muhammad Mahadi, N., and Najimudin, N. (2007) Expression of the Na+/H+ antiporter gene (g1-nhaC) of alkaliphilic Bacillus sp. G1 in Escherichia coli. *FEMS Microbiol Lett* **276**: 114–122.

Wang, G., Du, Y., Ma, X., Ye, F., Qin, Y., Wang, Y., et al. (2022) Thermophilic Nucleic Acid Polymerases and Their Application in Xenobiology. *Int J Mol Sci* **23**: 14969.

Wang, Y., Bai, J., Zhang, L., Liu, H., Wang, W., Liu, Z., and Zhang, G. (2023) Advances in studies on the plant rhizosphere microorganisms in wetlands: A visualization analysis based on CiteSpace. *Chemosphere* **317**: 137860.

Wangensteen, O.S., Palacín, C., Guardiola, M., and Turon, X. (2018) DNA metabarcoding of littoral hard-bottom communities: high diversity and database gaps revealed by two molecular markers. *PeerJ* **6**: e4705.

Weber, A.P.M., Horst, R.J., Barbier, G.G., and Oesterhelt, C. (2007) Metabolism and Metabolomics of Eukaryotes Living Under Extreme Conditions. In *International Review of Cytology*. Academic Press, pp. 1–34.

Wetlands, C. on C. of, Resources, C. on G., Environment and, Studies, D. on E. and L., and Council, N.R. (1995) Wetlands: Characteristics and Boundaries, National Academies Press.

Wilcox, B., Le Maitre, D., Jobbágy, E., Wang, L., and Breshears, D. (2017) Ecohydrology: Processes and Implications for Rangelands., pp. 85–129.

Williams, R.A.D. (1991) The Genus Thermus. In *Thermophilic Bacteria*. CRC Press.

Wilson, E.O. and Peter, F.M. NATIONAL ACADEMY PRESS Washington, D.C. 1988.

Winker, S., & Woese, C. R. (1991). A definition of the domains Archaea, Bacteria and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. Systematic and

applied microbiology, 14(4), 305-310.

Winter, T.C. (1988) A conceptual framework for assessing cumulative impacts on the hydrology of nontidal wetlands. *Environ Manage* **12**: 605–620.

Woese, C., Kandler, O., and Wheelis, M. (1990) Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci* **87**: 4576–4579.

Xian, W. D., Narsing Rao, M. P., Zhou, E. M., Liu, L., Xiao, M., & Li, W. J. (2018). Diversity of thermophiles in terrestrial hot springs of Yunnan and Tibet, China. Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications, 57-79.

Xu, L., Wu, Y.-H., Zhou, P., Cheng, H., Liu, Q., and Xu, X.-W. (2018) Investigation of the thermophilic mechanism in the genus Porphyrobacter by comparative genomic analysis. *BMC Genomics* **19**: 385.

Xu, T., Weng, B., Yan, D., Wang, K., Li, X., Bi, W., et al. (2019) Wetlands of International Importance: Status, Threats, and Future Protection. *Int J Environ Res Public Health* **16**: 1818.

Yang, R., Chen, Y., Qiu, Y., Lu, K., Wang, X., Sun, G., et al. (2023) Assessing the Landscape Ecological Health (LEH) of Wetlands: Research Content and Evaluation Methods (2000–2022). *Water* **15**: 2410.

Asfouri, Y., Sarra, D., Fatma, M., Lamara, S.-A., Hamed, M., and Abi-Ayad, S.-M. (2017) Cultivation of marine microalga Nannochloropsis gaditana under various temperatures and nitrogen treatments: effect on growth, lipid and pigment content. *Int J Biosci* **10**: 209–216.

Zhang, S., Li, Z., Lin, X., and Zhang, C. (2019) Assessment of Climate Change and Associated Vegetation Cover Change on Watershed-Scale Runoff and Sediment Yield. *Water* **11**: 1373.

Zhang, L., Delgado-Baquerizo, M., Shi, Y., Liu, X., Yang, Y., & Chu, H. (2021). Co-existing water and sediment bacteria are driven by contrasting environmental factors across glacier-fed aquatic systems. Water Research, 198, 117139.

Zhang, Y., Tariq, A., Hughes, A.C., Hong, D., Wei, F., Sun, H., et al. (2023) Challenges and solutions to biodiversity conservation in arid lands. *Sci Total Environ* **857**: 159695.

ANNEXES

ANNEXE.A

Photographies prises pendant la compagne d'échantillonnage des différents sites du Chott Ech Chergui.2018_2019

Site N°1 (Hot-Spring-1)





Site N°2 (Chott)



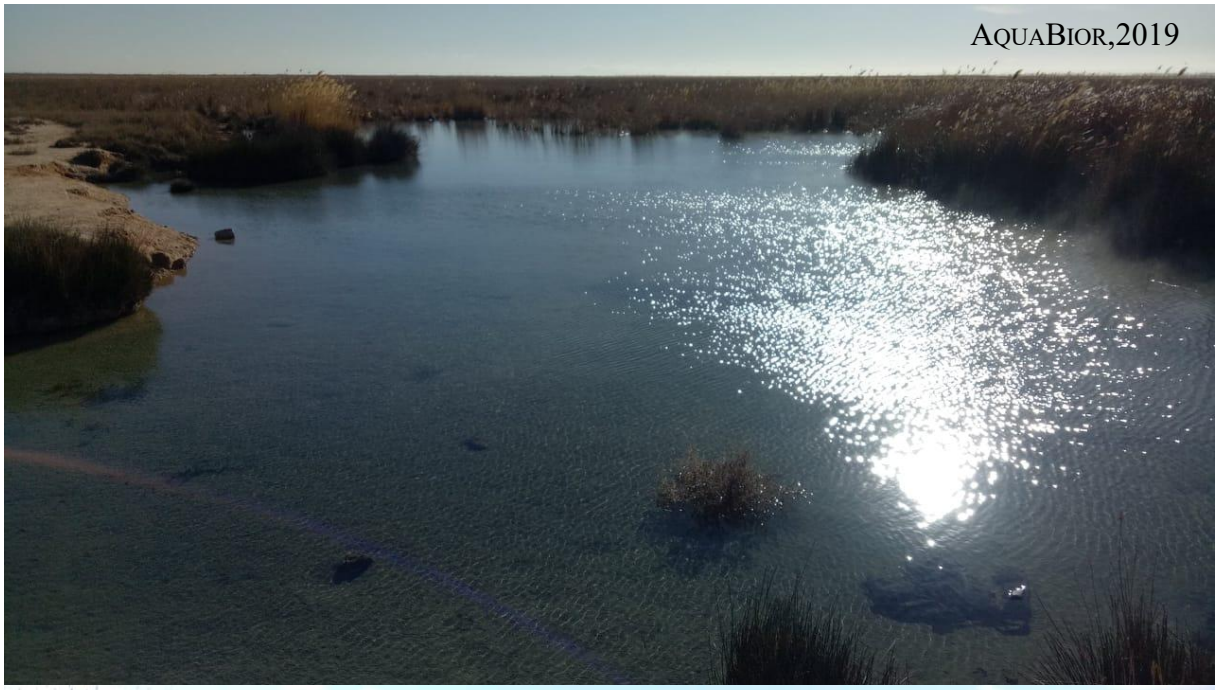




AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019

Site N°3 (L-Sebkha)






AquaBior,2019


AquaBior,2019


AquaBior,2019


AquaBior,2019

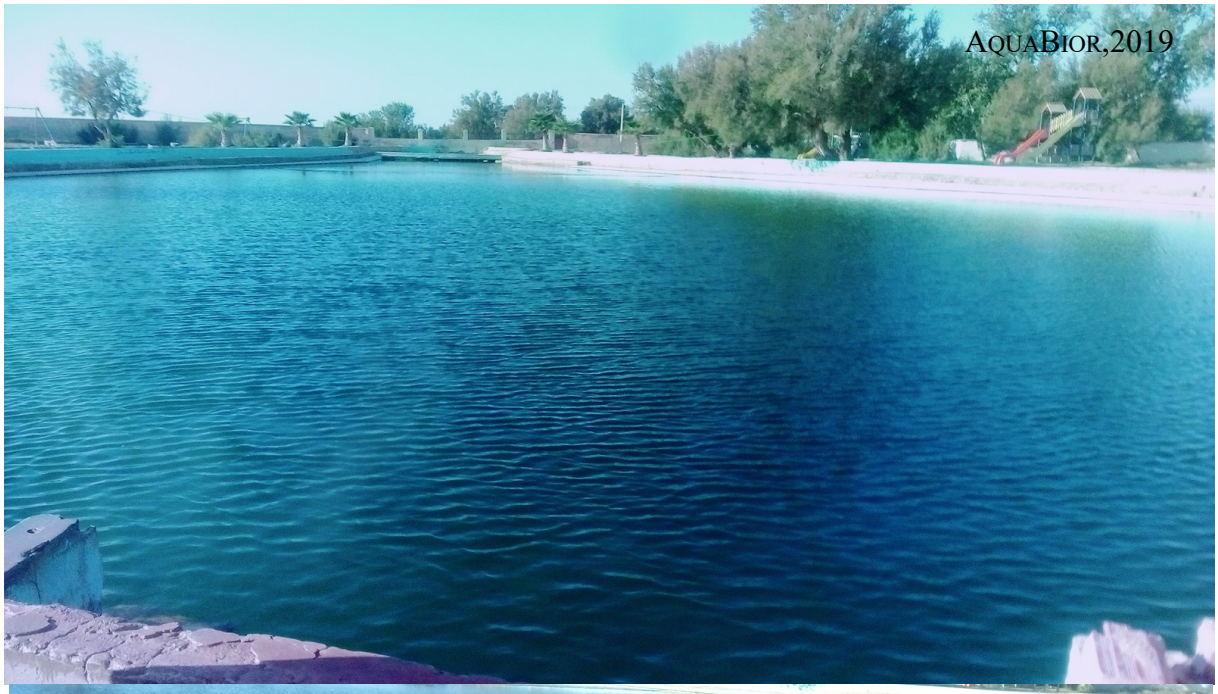

AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019

Site N°4 (Hot-Spring-2)






AquaBior,2019

Site N°5 (Basin)






AquaBior,2019


AquaBior,2019

Site N°6 (S-Sebkha)



AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019



Site N°7 (Oued)



Les autres points du Chott Ech Chergui non échantillonnés en raison d'absence totale d'eau sauf en septembre






AQUABIOR,2019


AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019

Site témoin (dait)

AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019



AQUABIOR,2019



ANNEXE.B

Protocole chimique de certains dosages :

Dosage de la matière organique :

Le dosage de la matière organique dissoute dans les échantillons d'eau a été réalisé selon une méthode de (Rodier *et al.*, 2016) (modifiée), Cette méthode repose sur un processus de titrage utilisant le permanganate de potassium (KmnO4) pour évaluer la matière organique présente.

1. Préparation des échantillons :

Des échantillons d'eau de 25 mL ont été traités individuellement. Chaque échantillon a été additionné avec 5 mL d'acide sulfurique à 2 $M.L^{-1}$ et chauffé à 97°C jusqu'à ébullition, 5 mL de solution de KmnO4 à 2 $mM.L^{-1}$ ont été ajoutés ensuite pour colorer le mélange. Les ballons fonds plats contenant les échantillons ont été replacés à 97°C pendant environ 10 minutes. Par la suite, 5 mL d'oxalate de sodium à 5 $mM.L^{-1}$ ont été introduits pour colorer à nouveau les échantillons.

2. Titration :

Le dosage de la matière organique a été réalisé par titrage avec une solution de permanganate de potassium à 2 $mM.L^{-1}$. Pour le témoin, cette étape a été répétée pour obtenir deux volumes de titration distincts.

3. Calcule de la concentration en matière organique :

La concentration de matière organique a été calculée à l'aide de la formule :

$MO[mg.L^{-1}] = ((V_T-V_0)/V_1)*16$. Avec V_0 : représente le volume de permanganate de potassium lors de la première décoloration du témoin, V_1 : correspond au volume de permanganate de potassium lors de la deuxième décoloration du témoin et V_T : représente le volume de permanganate de potassium ajouté aux échantillons pour la décoloration.

Dosage des chlorures :

Le dosage des chlorures dissous dans les échantillons d'eau a été réalisé selon la méthode [Mohr] (modifiée), Cette méthode repose sur un processus de titrage utilisant une solution de nitrates d'argent (AgNO3) pour évaluer la concentration en chlorures.

1. Préparation des échantillons :

Des échantillons de 100 mL ont été utilisés pour chaque analyse. Afin de faciliter la détection des chlorures, deux gouttes de solution de K2Cr2O7 à 5 % ont été ajoutées à chaque échantillon comme indicateur coloré. Cette étape a entraîné une coloration jaune, permettant une identification visuelle des changements lors de la titration.

2. Titration :

Pour évaluer la concentration en chlorures, une titration a été réalisée en utilisant une solution de nitrates d'argent (AgNO3) à 0,1 M. Cette solution a été ajoutée goutte à goutte aux échantillons jusqu'à l'apparition d'un changement de couleur, passant du jaune initial induit par le K2Cr2O7 à une teinte orangée caractéristique. Le volume de (AgNO3) est utilisé pour calculer la concentration des Chlorures dans les échantillons.

3. Calcule de la concentration en Chlorures :

La concentration en chlorures a été déterminée en utilisant la formule suivante :

$$[Cl^-] = V_{AgNO3} * N_{AgNO3} * 1000 * M_{cl^-} / V^1 .$$

Avec : V_{AgNO3} =Le volume de $AgNO_3$ utilisé pour la titration de chaque échantillon ; N=Normalité de $AgNO_3$; M= Molarité de Cl^- ; V^1= Volume de la prise d'essai.

Dosage du calcium :

Le dosage du calcium dissous dans les échantillons d'eau a été réalisé selon la méthode de (Rodier *et al.*, 2009) (modifiée) employant une réaction de complexation suivie d'une titration.

1. Procédure :

Un volume de 50 mL d'échantillon d'eau a été prélevé, suivi de l'ajout de 2 mL de NaOH à 0,2 M. Par la suite, de la poudre de murexide a été introduite dans l'échantillon, induisant une coloration rose.

2. Titration :

La titration a été effectuée en utilisant une solution d'EDTA à 0,01 M jusqu'à l'obtention d'un virage de couleur violet. Ce changement de couleur a marqué la complexation complète du calcium présent dans l'échantillon par l'EDTA, le volume d'EDTA utilisé pour le virage de couleur a été noter et utiliser dans la formule suivante.

3. Calcule de la concentration en Calcium :

La concentration en calcium est calculé selon l'équation suivante :

$$[Ca^{2+}]mg.L^{-1} = V_{EDTA} * F_{=8,016}.$$

Dosage de la dureté :

Le dosage de la dureté dans les échantillons d'eau a été réalisé selon la méthode de (Rodier *et al.*, 2009)(modifiée) employant une réaction de complexation suivie d'une titration.

1. Procédure :

Un volume de 10 mL d'échantillon d'eau a été utilisé, suivi de l'ajout de 1 mL de tampon pH=10 . Par la suite, de la poudre de Noir d'erochrome a été introduit dans l'échantillon, induisant une coloration violette.

2. Titration :

La titration a été effectuée en utilisant une solution d'EDTA à 0,01 M jusqu'à l'obtention d'un virage de couleur Bleu, le volume d'EDTA utilisé pour le virage de couleur a été noter et utiliser dans la formule suivante.

3. Calcule de la dureté :

La dureté est calculée selon l'équation suivante :

$$[\text{Dureté}]\text{mg.L}^{-1} = V_{EDTA} * F_{(\text{facteur de réaction}=100))}$$

Remarque :
Tous les procédures de dosages ont été répétée cinq fois pour chaque échantillon d'eau afin d'assurer la fiabilité des mesures .

Protocoles microbiologiques :

Hydrolyse du tween 80

La mise en évidence de l'activité lipolytique a été effectué en utilisant le tween 80 comme substrat. Les milieux utilisés pour les isolements et la culture a différentes concentrations en sel et a différents pH sont préparé et autoclaver puis gardé en surfusion (45°C). Le tween 80 est autoclavé séparément puis rajoutée au milieu à raison de 1% (v/v). Les isolats bactériens sont ensemencés puis incubée aux différentes gammes de tolérance de températures de chaque isolat pendant 14 jours. Un résultat positif se traduit par la présence d'un halo opaque autour de la colonie.

Hydrolyse de l'amidon

La mise en évidence de la présence de l'enzyme amylase chez les isolats bactérienne est effectué après ensemencement sur les mêmes milieux avec les mêmes conditions décrient précédemment pour l'hydrolyse du tween 80, après avoir rajouté de l'amidon a différentes concentrations (1 ;1,5 ;2%). Les boites sont incubées à différentes températures (gamme de températures de croissances de chaque isolat) pendant 7 à 14 jours. L'hydrolyse de l'amidon est révélée en ajoutant quelques gouttes de Lugol. Un résultat positif se traduit par un halo clair autour de la colonie.

Recherche de catalase

L'enzyme catalase permet la dégradation du qui produit de l'oxydation par l'oxygène aérien. La mise en évidence de la présence de cette enzyme chez les isolats est effectuée par contact directe de la culture avec une solution de H_2O_2 à 10 volumes, en conditions aseptique une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'une culture bactérienne. Un résultat positif se traduit par libération de gaz qui forme une mousse de bulle qui résulte de décomposition de dioxygène.

Production de nitrate reductase

Ce test consiste à révéler la présence de l'enzyme nitrate réductase, les mêmes milieux de culture d'isolement et les mêmes conditions décrite dans les tests précédents sont respectés à l'exception de l'addition de la gélose dans le milieu. 10mL de bouillon nutritif contenant 0,1% de nitrate de potassium sont ensemencés par les isolats bactériennes et incubées aux mêmes conditions de la gamme de température de croissance de chaque souche. Au 5ème, 10ème et 14ème jours d'incubation dans la gamme de tolérance de température de chaque isolat et en conditions aseptiques, trois gouttes des réactifs de Griess I et II sont ajoutées à 1mL de culture. La réduction des nitrates en nitrites est révélée par l'apparition d'une coloration rouge. En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont alors ajoutés en présence d'une coloration rouge le test est négatif (pas de réduction de nitrates) et en absence de la coloration les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites par les isolats.

Utilisation des glucides comme source de carbone

La mise en évidence de l'utilisation de certains sucres comme seule source de carbone est réalisée sur le milieu liquide ISP 9 (g/l : $(NH_4)_2SO_4$ 2,64g, KH_2PO_4 2,38g, K_2HPO_4 5,65g, $MgSO_4$, $7H_2O$, 1g,). Les différentes sources de carbone testées sont les suivantes : D-lactose, D-fructose, D-glucose et D-mannitol. Des solutions à 10% (poids/volume) de ces sources de carbone sont stérilisées par filtration sur membrane millipore (0,22 µm) puis rajoutés au milieu de base en suspension afin d'obtenir une concentration finale de 1% (poids/volume). Après ensemencement et incubation pendant 14jours aux différentes conditions de cultures de chaque isolat, l'utilisation de sucre est estimée par la croissance des souches en comparaison avec les cultures ISP 9 exempte de source de carbone (Témoin négatif) et sur ISP 9 contenant 1% de glucose (Témoin positif).

Remarque

Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl et de pH de chaque isolat.

Mobilité et dégradation du mannitol

Le milieu mannitol mobilité est un milieu semi solide qui permet d'étudier simultanément la dégradation du mannitol (la dégradation en anaérobiose conduit à la formation de fructose qui est un produit de dégradation du mannose) et la mobilité. Le milieu est

composé de (hydrolysat de caséine 10g ; Mannitol 7.5g ; Rouge de Phénol 40mg ; Agar 3.5g ; Eau distillé 1L a pH 7.6. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Après incubation pendant 24h à 14 jours aux différentes conditions de cultures de chaque isolat, la mobilité se traduit par l'envahissement du milieu à partir de la piqûre d'inoculation et la dégradation du mannitol par le virage de couleur du milieu du rouge vers du jaune.

Remarque :

Ce milieu contient un indicateur de pH ce qui nous a empêcher de varier le pH.
Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl de chaque isolat.

Dégradation des citrates

Le milieu citrate de Simmons est un milieu solide en gélose incliné (SIMMONS citrate agar, suitable for microbiology, NutriSelect® Basic) qui permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Seules les bactéries possédant une citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée par des stries sur toute la surface puis incubé aux différentes gammes de tolérance de chaque isolat ; La croissance est suivie quotidiennement durant 24h à 14 jours. Un résultat positif se traduit par une croissance sans aucun changement du milieu ou bien un virage de couleur vers du bleu à la suite de l'alcalinisation du milieu.

Remarque :

Ce milieu contient un indicateur de pH ce qui nous a empêcher de varier le pH.
Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl de chaque isolat.

Recherche de métabolites formés à partir de l'acide pyruvique

Le milieu utilisé pour ce test est le milieu Clark Et Lubs qui permet l'étude des produits de fermentation du glucose. Le test VP (vosges-proskauer) permet la mise en évidence de la production d'acétoine (ou 3-hydroxy-butanone) au cours de la fermentation butyléneglucolique : en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d'n-naphtol, l'acétoine donne une coloration rouge en milieu riche en oxygène. Après ensemencement

sur le milieu Clark et Lubs : Peptone 7g Glucose 5g Phosphate dipotassique 5g a pH 7,2 et incubation aux conditions de croissance des isolats, on rajoute 10 gouttes de KOH ou NaOH (réactif VP1) et 10 gouttes d'alphanaphtol (réactif VP2), puis on incline le tube pour permettre une bonne oxygénation et après quelques minutes jusqu'à une heure. La présence d'acétoine (bactérie VP positive) se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant diffuser dans tout le milieu.

Remarque :

Ce milieu contient un indicateur de pH ce qui nous a empêcher de varier le pH.
Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl de chaque isolat.

Recherche de la production de gaz et H2S

Le milieu Triple Sugar Iron Agar (TSI) est utilisé principalement pour orienter l'identification des entérobactéries (bacilles à Gram-). Il permet de permettre en 24 heures les fermentations du glucose, du lactose et du saccharose, la production d'hydrogène sulfuré (H_2S) et de gaz provenant de la fermentation du glucose. Ensemencer le culot du milieu par piqûre centrale et la pente en stries serrées, afin d'avoir une culture en nappe avec la souche bactérienne à tester. Ne pas revisser à fond le bouchon du tube. Après incubation pendant 24h à 14 jours aux différentes conditions de cultures de chaque isolat, la présence de gaz se traduit par des fissures de la gélose et la production d'H_2S par le virage de la couleur du milieu vers le noir.

Remarque :

Ce milieu contient un indicateur de pH ce qui nous a empêcher de varier le pH.
Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl de chaque isolat.

Aspect microscopique des souches

Coloration de gram :

La procédure de la coloration de gram Elle est effectuée selon la méthode classique. La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer. Pour chaque colonie

des frottis sont réalisés. Ces derniers sont colorés en premier lieu par une solution de violet de Gentiane qui est un colorant basique, pendant une minute. Ensuite les lames sont rincées par une solution iodo iodurée (Lugol) qui agit en augmentant les interactions entre le colorant et les cellules. Afin que celle-ci soient contrastées. Les frottis sont décolorés par l'alcool et rincés à l'eau distillée pour éliminer l'excès de la coloration. Enfin, les frottis sont recolorés par un colorant basique de couleur rose la Fuschine, pendant une minute, puis rincés abondamment à l'eau du robinet.

Pour les souches halophiles la technique appliquée est celle de Dussault (1955), une suspension bactérienne dense est étalée sur lame, séchée à l'air puis fixée à l'acide acétique à 2% pendant 5 min. L'excès de l'acide est rejeté, après séchage, le frottis est recouvert d'une solution de violet de Gentiane pendant 3 minutes, rincer à l'eau puis recoloré à la fuchsine pendant 1 min 30, la lame est rincée à l'eau distillée, séchée puis examinée. Une fois les lames sont séchées, elles sont examinées au microscope optique à l'objectif (Gx100) à l'aide d'une goutte d'huile à immersion.

Coloration des spores

La présence de spores chez les extrêmophiles est courante afin de pouvoir s'adapter aux agressions naturelles, afin de vérifier la présence de spores d'abord un frottis a été préparé puis coloré avec de vert de malachite à 5% pendant 10min jusqu'à l'évaporation, un colorant très puissant qui pénètre dans les endospores. Ensuite les cellules ont été lavées à l'eau et coloré à la safranine ou au mercurochrome à 5%pendant 1 min. Sous microscope les endospores apparaissent en vert ou rouge (Solomon et Viswalingmn, 2013).

Recherche du type respiratoire

Le milieu utilisé pour déterminer le type respiratoire est la gélose viande foie, l'ensemencement sur ce milieu par les isolats se fait par piqure centrale profonde puis incubé pendant 24h à 14 jours aux différentes conditions de cultures de chaque isolat.

Remarque

Ce test a été effectué dans la gamme de tolérance de NaCl et de pH de chaque isolat.

Recherche de l'enzyme Oxydase

La recherche de l'enzyme oxydase est mise en évidence en utilisant des disques d'oxydases prêts à l'emploi contenant du Dichlorure de N, Ndiméthyl-1,4-phénylènediammonium. En condition aseptiques, et en contacte d'isolat avec le disque Humidifié par goutte d'eau distillée stérile. On observe ou pas un virage de couleur du mélange vers le violet au bout de 30 secondes ce qui indique la présence de l'enzyme oxydase en absence de changement de couleur les isolats ne possèdent pas d'enzyme oxydase (Ulucay et al., 2022).

ANNEXE.C

Partie métabarcodage

Tableau S1. Amorces COI utilisé pour la préparation de la librairie pour le métabarcodage.

COI	Primer ID	Primer sequence	Référence
forward	IIICRrevN	5'- GGNTGAACNGTNTAYCCNCC -3'	homemade primer (V. Dubut)IMBE
reverse	HBR2d	5'- TAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA -3'	homemade primer (V. Dubut)IMBE

Tableau S2. Amorces 16s utilisé pour la préparation de la librairie pour le métabarcodage.

16S1 (V4 part)	Primer ID	Primer sequence	Référence
forward	515FY	5'- GTGYCAGCMGCCGCGGTAA -3'	Parada et al. 2016
reverse	806RB	5'- GGACTACNVGGGTWTCTAAT -3'	Apprill et al. 2015

Tableau S3. Amorces de la librairie de la première PCR (PCR1)en utilisant les amorces COI du tableau S1.

Sequencing Primer Read 1	*HS*	*Tag ID*	*Tag sequence*	Tagged Primer ID (P	Tagged primer sequence (PCR1)
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F02*	*TCGATCACGATGT*	IIICRrevN_F020	**TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG**TCGATCACGATGTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F02*	*TCGATCACGATGT*	IIICRrevN_F021	**TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG**NTCGATCACGATGTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F02*	*TCGATCACGATGT*	IIICRrevN_F022	**TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG**NNTCGATCACGATGTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F02*	*TCGATCACGATGT*	IIICRrevN_F023	**TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG**NNNTCGATCACGATGTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F01*	*CGATCGTCATCACG*	IIICRrevN_F010	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCGATCGTCATCACGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F01*	*CGATCGTCATCACG*	IIICRrevN_F011	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNCGATCGTCATCACGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F01*	*CGATCGTCATCACG*	IIICRrevN_F012	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNCGATCGTCATCACGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F01*	*CGATCGTCATCACG*	IIICRrevN_F013	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCGATCGTCATCACGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F04*	*GATCGACAGATC*	IIICRrevN_F040	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGATCGACAGATCGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F04*	*GATCGACAGATC*	IIICRrevN_F041	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNGATCGACAGATCGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F04*	*GATCGACAGATC*	IIICRrevN_F042	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNGATCGACAGATCGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F04*	*GATCGACAGATC*	IIICRrevN_F043	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNGATCGACAGATCGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F03*	*ACGATCCACAGTG*	IIICRrevN_F030	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACGATCCACAGTGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F03*	*ACGATCCACAGTG*	IIICRrevN_F031	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNACGATCCACAGTGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F03*	*ACGATCCACAGTG*	IIICRrevN_F032	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNACGATCCACAGTGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F03*	*ACGATCCACAGTG*	IIICRrevN_F033	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNACGATCCACAGTGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F05*	*TGATCGATGATCAG*	IIICRrevN_F050	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGTGATCGATGATCAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F05*	*TGATCGATGATCAG*	IIICRrevN_F051	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNTGATCGATGATCAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F05*	*TGATCGATGATCAG*	IIICRrevN_F052	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNTGATCGATGATCAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F05*	*TGATCGATGATCAG*	IIICRrevN_F053	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNTGATCGATGATCAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F07*	*CATCGAGTAGAG*	IIICRrevN_F070	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCATCGAGTAGAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F07*	*CATCGAGTAGAG*	IIICRrevN_F071	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNCATCGAGTAGAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F07*	*CATCGAGTAGAG*	IIICRrevN_F072	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNCATCGAGTAGAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F07*	*CATCGAGTAGAG*	IIICRrevN_F073	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCATCGAGTAGAGGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F06*	*GTCGATCATGTCA*	IIICRrevN_F060	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTCGATCATGTCAGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F06*	*GTCGATCATGTCA*	IIICRrevN_F061	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNGTCGATCATGTCAGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F06*	*GTCGATCATGTCA*	IIICRrevN_F062	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNGTCGATCATGTCAGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F06*	*GTCGATCATGTCA*	IIICRrevN_F063	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNGTCGATCATGTCAGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG		*F13*	*AGATCGTACTAGCT*	IIICRrevN_F130	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGAGATCGTACTAGCTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*F13*	*AGATCGTACTAGCT*	IIICRrevN_F131	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNAGATCGTACTAGCTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*F13*	*AGATCGTACTAGCT*	IIICRrevN_F132	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNAGATCGTACTAGCTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*F13*	*AGATCGTACTAGCT*	IIICRrevN_F133	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGNNNAGATCGTACTAGCTGGNTGAACNGTNTAYCCNCC
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R02*	*TATCGACGATGT*	HBR2d_R020	**GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG**TATCGACGATGTTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R02*	*TATCGACGATGT*	HBR2d_R021	**GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG**NTATCGACGATGTTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R02*	*TATCGACGATGT*	HBR2d_R022	**GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG**NNTATCGACGATGTTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R02*	*TATCGACGATGT*	HBR2d_R023	**GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG**NNNTATCGACGATGTTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R01*	*CTCGATGATCACG*	HBR2d_R010	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCTCGATGATCACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R01*	*CTCGATGATCACG*	HBR2d_R011	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNCTCGATGATCACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R01*	*CTCGATGATCACG*	HBR2d_R012	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNCTCGATGATCACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R01*	*CTCGATGATCACG*	HBR2d_R013	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCTCGATGATCACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R04*	*GCGATCAGCAGATC*	HBR2d_R040	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCGATCAGCAGATCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R04*	*GCGATCAGCAGATC*	HBR2d_R041	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNGCGATCAGCAGATCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R04*	*GCGATCAGCAGATC*	HBR2d_R042	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNGCGATCAGCAGATCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R04*	*GCGATCAGCAGATC*	HBR2d_R043	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNGCGATCAGCAGATCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R03*	*ATATCGACAGTG*	HBR2d_R030	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGATATCGACAGTGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R03*	*ATATCGACAGTG*	HBR2d_R031	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNATATCGACAGTGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R03*	*ATATCGACAGTG*	HBR2d_R032	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNATATCGACAGTGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R03*	*ATATCGACAGTG*	HBR2d_R033	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNATATCGACAGTGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R05*	*TCTCGATGATCAG*	HBR2d_R050	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTCTCGATGATCAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R05*	*TCTCGATGATCAG*	HBR2d_R051	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNTCTCGATGATCAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R05*	*TCTCGATGATCAG*	HBR2d_R052	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNTCTCGATGATCAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R05*	*TCTCGATGATCAG*	HBR2d_R053	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNTCTCGATGATCAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R07*	*CGCGATCTGTAGAG*	HBR2d_R070	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCGCGATCTGTAGAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R07*	*CGCGATCTGTAGAG*	HBR2d_R071	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNCGCGATCTGTAGAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R07*	*CGCGATCTGTAGAG*	HBR2d_R072	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNCGCGATCTGTAGAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R07*	*CGCGATCTGTAGAG*	HBR2d_R073	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCGCGATCTGTAGAGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R06*	*GAGATCATGTCA*	HBR2d_R060	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGAGATCATGTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R06*	*GAGATCATGTCA*	HBR2d_R061	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNGAGATCATGTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R06*	*GAGATCATGTCA*	HBR2d_R062	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNGAGATCATGTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R06*	*GAGATCATGTCA*	HBR2d_R063	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNGAGATCATGTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R08*	*ACATCGACGTACG*	HBR2d_R080	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGACATCGACGTACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R08*	*ACATCGACGTACG*	HBR2d_R081	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNACATCGACGTACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R08*	*ACATCGACGTACG*	HBR2d_R082	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNACATCGACGTACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R08*	*ACATCGACGTACG*	HBR2d_R083	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNACATCGACGTACGTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R17*	*TGTCGATCTACAGC*	HBR2d_R170	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTGTCGATCTACAGCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R17*	*TGTCGATCTACAGC*	HBR2d_R171	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNTGTCGATCTACAGCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R17*	*TGTCGATCTACAGC*	HBR2d_R172	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNTGTCGATCTACAGCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R17*	*TGTCGATCTACAGC*	HBR2d_R173	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNTGTCGATCTACAGCTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R16*	*CACGATGACGAC*	HBR2d_R160	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCACGATGACGACTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R16*	*CACGATGACGAC*	HBR2d_R161	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNCACGATGACGACTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R16*	*CACGATGACGAC*	HBR2d_R162	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNCACGATGACGACTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R16*	*CACGATGACGAC*	HBR2d_R163	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNCACGATGACGACTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R11*	*GTGATCGCACGAT*	HBR2d_R110	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGTGATCGCACGATTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R11*	*GTGATCGCACGAT*	HBR2d_R111	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNGTGATCGCACGATTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R11*	*GTGATCGCACGAT*	HBR2d_R112	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNGTGATCGCACGATTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R11*	*GTGATCGCACGAT*	HBR2d_R113	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNGTGATCGCACGATTAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG		*R12*	*AGATCGAGCACTCA*	HBR2d_R121	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGAGATCGAGCACTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*N*	*R12*	*AGATCGAGCACTCA*	HBR2d_R122	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNAGATCGAGCACTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NN*	*R12*	*AGATCGAGCACTCA*	HBR2d_R123	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNAGATCGAGCACTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG	*NNN*	*R12*	*AGATCGAGCACTCA*	HBR2d_R124	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNNNAGATCGAGCACTCATAWACTTCDGGRTGNCCRAARAAYCA

Tableau S4. Amorces et préparation de la librairie de la deuxième PCR (PCR2) des trois répliquât technique de métabarcodage.

Primer ID (PCR2)	Primer sequence (PCR2)	Illumina Adapter (P5/P7)	Illumina index(i5/i7)	séquence d'ccrochage
P5i5SA503	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTAGCGAGTTCGTCGGCAGCGTC	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	TAGCGAGT	TCGTCGGCAGCGTC
P5i5SB501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACCTACTATATCGTCGGCAGCGTC	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	CTACTATA	TCGTCGGCAGCGTC
P5i5SC501	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACACGACGTGTCGTCGGCAGCGTC	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC	ACGACGTG	TCGTCGGCAGCGTC
P7i7SA701	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATAACTCTCGGTCTCGTGGGCTCGG	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AACTCTCG	GTCTCGTGGGCTCGG
P7i7SA702	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATACTATGTCGTCTCGTGGGCTCGG	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	ACTATGTC	GTCTCGTGGGCTCGG
P7i7SA703	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATAGTAGCGTGTCTCGTGGGCTCGG	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT	AGTAGCGT	GTCTCGTGGGCTCGG

PCR1 replicate	Librairy	Adaptater primer
R1	XXX-R1	P5-i5-SA503
		P7-i7-SA701
R2	XXX-R2	P5-i5-SB501
		P7-i7-SA702
R3	XXX-R3	P5-i5-SC501
		P7-i7-SA703

ANNEXE.D

Résultats physicochimiques :

Tableau S5. Données physicochimiques moyenne des échantillons des sédiments

	Site	pH	Matière Sèche mg	Salinité $g.L^{-1}$
Janvier	2	7,58±0,1	59,62±1,2	6±0,1
	3	8±0,1	11,13±0,08	240±0,1
	5	7,9±0,1	40,31±0,1	16,2±1,4
	6	8±0,1	35,36±1,6	212±1,4
Avril	2	7,5±0,1	39,2±0,5	6±0,2
	3	8,27±0,1	10,61±1,4	243±0,1
	5	7,75±0,1	32,23±2,5	7±0,1
	6	8,02±0,1	34,65±2,5	170±0,1
Juillet	2	7,8±0,1	44,14±0,1	7,9±0,1
	3	9±0,1	5,12±2,16	380±1,4
	5	8±0,1	16,44±2,5	18±1,4
	6	8,4±0,1	14,36±2,5	200±0,2
Octobre	2	7,2±0,1	43,95±0,1	6,4±0,1
	3	7,9±0,1	20,43±0,1	256±0,1
	5	7,4±0,1	21,96±0,2	10±0,2
	6	7,5±0,1	20,43±0,1	133±0,1

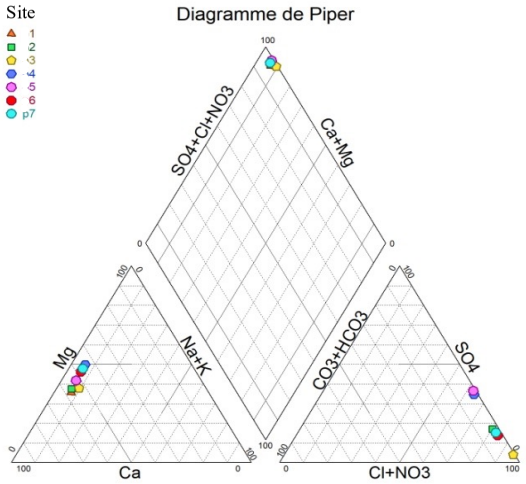


Figure S1. Distribution of representative points of anions and cations characterizing the chemical structure of Chott Ech Chergui water according to the piper diagram using Diagramme software

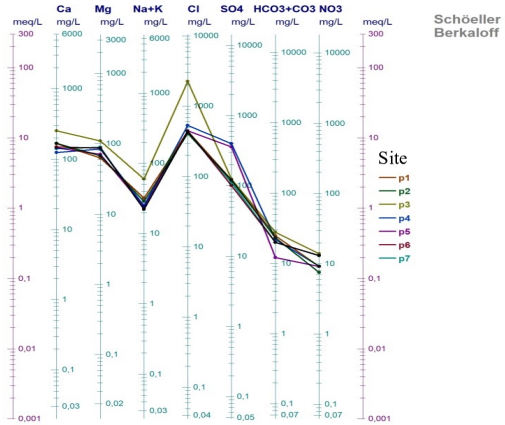


Figure S2. Determination of the chemical facies of the waters at each sample site at the level of Chott Ech Chergui from the mean concentrations of calcium, magnesium, sodium, potassium chloride, sulfate, bicarbonates and nitrates after their classification by the diagram of Schoeller Berkaloff using Diagramme software

ANNEXE.E

Tableau S6. Moyennes de nombre de mOTUs et de diversité d (Simpson) par site, type d'échantillons et marqueurs sans filtre de 85% et des NA à un phylum.

	16S		**COI**	
Mean Nb mOTUs	Sediment	Water	Sediment	Water
Chott	5,17	6,42	16,15	23,83
L-Sebkha	5,08	8,44	9,00	27,89
S-Sebkha	4,50	9,08	17,67	26,17
Bassin	2,83	11,25	20,67	21,33
Hot-Spring-1	NA	7,83	NA	18,00
Hot-Spring-2	NA	8,42	NA	17,75
Mean d (Simpson)	Sediment	Water	Sediment	Water
Chott	0,62	0,63	2,09	2,69
L-Sebkha	0,56	0,89	1,61	3,11
S-Sebkha	0,59	0,92	2,05	2,84
Bassin	0,36	1,13	2,44	2,35
Hot-Spring-1	NA	0,77	NA	1,93
Hot-Spring-2	NA	0,88	NA	2,01

ANNEXE.F

Tableau S7 Représentation des pourcentages de contribution de chaque embranchement d'eucaryotes en nombre de lectures et de mOTUs dans l'eau et dans les sédiments

	Données COI avec 85% de similarité				Sédiment				Eau			
phylum	Nbr reads	Nbr mOtus	% mOTUs	%reads	Nbr Reads	%reads	Nbr mOTUs	% mOTUs	Nbr Reads	%reads	Nbr mOTUs	% mOTUs
Annelida	**34525**	**8**	6,83760684	20,1377709	**31771**	**44,8356642**	4	**8,88888889**	2754	2,73803724	6	**7,14285714**
Arthropoda	**32939**	**21**	17,9487179	19,2126875	5070	7,15485246	**10**	**22,2222222**	27869	**27,7074655**	**12**	**14,2857143**
Ascomycota	492	5	4,27350427	0,28697417	75	0,10584101	2	4,44444444	417	0,41458298	3	3,57142857
Bacillariophyta	**27738**	**14**	11,965812	16,1790439	7299	10,3004474	**13**	**28,8888889**	20439	**20,3205313**	7	**8,33333333**
Chlorophyta	456	2	1,70940171	0,26597606	0	0	0	0	456	0,45335693	2	2,38095238
Chordata	2162	5	4,27350427	1,26105317	53	0,07479432	1	2,22222222	2109	2,0967758	4	4,76190476
Discosea	9433	**15**	12,8205128	5,50208815	**8308**	**11,7243618**	4	8,88888889	1125	1,11847927	**12**	**14,2857143**
Gastrotricha	868	1	0,85470085	0,50628777	741	1,04570921	1	2,22222222	127	0,12626388	1	1,19047619
Hacrobia	**31517**	1	0,85470085	18,3832622	0	0	0	0	**31517**	31,3343209	1	1,19047619
Mollusca	1313	2	1,70940171	0,76584774	1313	1,85292333	2	4,44444444	0	0	0	0
Nematoda	75	1	0,85470085	0,04374606	75	0,10584101	1	2,22222222	0	0	0	0
Nemertea	237	1	0,85470085	0,13823756	237	0,3344576	1	2,22222222	0	0	0	0
Ochrophyta	**21328**	**15**	12,8205128	12,4402137	**15507**	**21,8836878**	1	2,22222222	5821	5,78726027	**15**	**17,8571429**
Oomycota	1793	11	9,4017094	1,04582254	145	0,20462596	3	6,66666667	1648	1,63844785	8	9,52380952
Platyhelminthes	110	1	0,85470085	0,06416089	0	0	0	0	110	0,10936242	1	1,19047619
Rhodophyta	227	1	0,85470085	0,13240475	61	0,08608402	0	0	166	0,16503783	1	1,19047619
Rotifera	6206	**12**	10,2564103	3,61984088	181	0,25542964	1	2,22222222	6025	5,99007785	11	13,0952381
Streptophyta	25	1	0,85470085	0,01458202	25	0,03528034	1	2,22222222	0	0	0	0
somme	171444	117	100	100	70861	**100**	45	100	100583	100	84	100

Tableau S8. Représentation des pourcentages de contribution de chaque embranchement issu des données métabarcodage du gène 16s et répartition des mOTUs par site.

	%	nbr mOTUs	Chott S	G Sebkha S	S Bassin S	P Sebkha S	Source1 W	Chott W	G Sebkha W	Source 2 W	S Bassin W	P Sebkha W
NBR DE CLUSTER	100%	265	41	45	23	30	65	43	52	44	49	48
PROTEOBACTERIA	50,5660377	134	19	24	13	11	44	26	29	35	23	16
ACTINO	4,1509434	11	0	0	1	1	9	1	1	1	3	3
Armatimonadetes	0,37735849	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacteroidetes	23,7735849	63	10	8	3	11	8	13	12	4	16	16
Balneolaeota	1,13207547	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Campilobacterota	4,1509434	11	0	1	1	4	1	1	4	4	0	0
Cyanobacteria	4,90566038	13	13	2	1	1	0	0	1	0	4	4
Deinococcus-Thermus	0,75471698	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Euryarchaeota	1,50943396	4	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0
Firmicutes	3,77358491	10	1	3	3	2	1	1	3	0	0	0
Pacearchaeota	0,37735849	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Planctomycetes	1,13207547	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Verrucomicrobia	3,39622642	9	0	1	0	0	0	1	1	0	2	7
NBR DE READS		554242	20218	18105	8567	16719	58329	78687	45981	91692	128081	88049

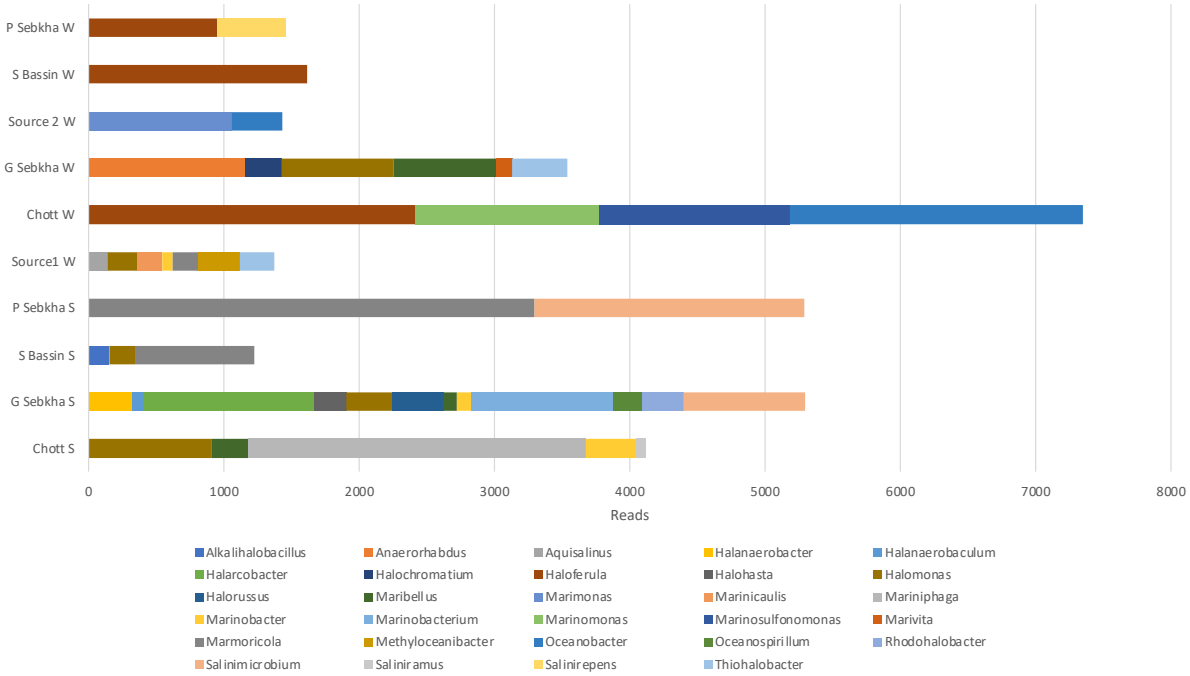


Figure S3. Histogrammes montrant l'abondance relative de l'amplicon du gène de l'ARNr 16S attribué au genre halophile au cours de l'année d'enquête, à partir des six écosystèmes (eau et sédiments)

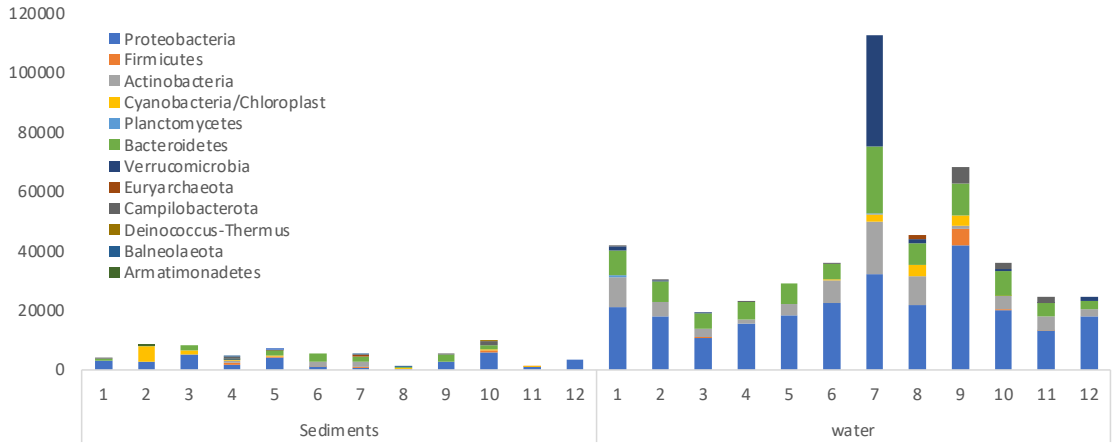


Figure S4. Histogrammes montrant l'abondance relative de l'amplicon du gène de l'ADNr 16S au cours de l'année d'enquête, à partir des six écosystèmes (eau et sédiments).

ANNEXE.G

Fichier S9. Résultats des analyses de Simper en utilisant le logiciel PrimerV7.

Note: I have colored the extremophilic strains in green to see their contribution to differentiating the sites

Note: I have colored in red the genera of bacteria which have less than 80% resemblance to the strains in the genomic databases

I colored the cell in yellow the less than 40%

Group Confluence

Average similarity: 5,96

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
14367	0,89	1,5	0,29	25,16	25,16	14367	4	TACAGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Nevskiales	98 %	Steroidobact	98 %	Povalibacter	95 %
108461	0,76	1,1	0,23	18,46	43,62	108461	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomona	50 %	Thiobacillac	43 %	Sulfuritortus	43 %
68655	0,7	0,82	0,21	13,69	57,31	68655	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	99 %	Chromatiale	98 %	Chromatiace	98 %	Phaeochrom	67 %
29280	0,69	0,82	0,22	13,68	70,98	29280	1	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Rhodanobact	95 %	Pseudofulvi	95 %

Group Hypersaline

Average similarity: 7,43

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
101092	1,35	2,74	0,38	36,83	36,83	101092	3	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	85 %
88952	0,9	1,36	0,31	18,29	55,13	88952	1	TACTAGGCG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
62131	0,7	0,84	0,21	11,36	66,49	62131	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Parasegetibu	92 %
35077	0,7	0,79	0,12	10,69	77,18	35077	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrob	100 %

Group Alkalin

Average similarity: 10,68

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
108461	1,3	3,33	0,39	31,22	31,22	108461	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomona	50 %	Thiobacillac	43 %	Sulfuritortus	43 %
101092	1,29	2,8	0,4	26,25	57,48	101092	3	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	85 %
14367	1	1,76	0,32	16,5	73,98	14367	4	TACAGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Nevskiales	98 %	Steroidobact	98 %	Povalibacter	85 %

Groups Confluence & Hypersaline

Average dissimilarity = 94,49

Group Confluence Group Hypersaline

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Disc/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
101092	0,22	1,35	6,07	0,66	6,42	6,42	101092	3	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	85 %
14367	0,89	0,5	4,26	0,7	4,51	10,93	14367	4	TACAGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Nevskiales	98 %	Steroidobact	98 %	Povalibacter	85 %
68655	0,7	0,67	4,23	0,71	4,47	15,4	68655	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	99 %	Chromatiale	98 %	Chromatiace	98 %	Phaeochromatium	67 %
35077	0	0,7	4,18	0,4	4,42	19,83	35077	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrobium	100 %
88952	0,45	0,9	4,13	0,74	4,37	24,2	88952	1	TACTAGGCG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacterium	100 %
29280	0,69	0,67	3,91	0,73	4,13	28,33	29280	1	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Rhodanobact	95 %	Pseudofulvimonas	95 %
108461	0,76	0,21	3,36	0,59	3,55	31,89	108461	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomona	50 %	Thiobacillac	43 %	Sulfuritortus	43 %
62131	0,08	0,7	3,27	0,5	3,46	35,35	62131	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophagi	100 %	Parasegetibacter	92 %
69717	0,45	0,4	2,94	0,54	3,11	38,46	69717	5	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospir	100 %	Halomonad	100 %	Halomonas	100 %
84256	0,53	0,25	2,43	0,54	2,57	41,02	84256	2	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	99 %	Sutterellace	67 %	Duodenibacillus	67 %
39906	0,1	0,32	2,13	0,3	2,25	43,27	39906	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	59 %	Gammaprot	52 %	Chromatiale	51 %	Ectothiorhod	52 %	Inmirania	52 %
65913	0	0,34	2	0,27	2,12	45,39	65913	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Deltaproteob	100 %	Desulfobacte	100 %	Desulfobulb	100 %	Desulfobulbus	100 %
64311	0	0,32	1,88	0,27	1,99	47,38	64311	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Balneolaeot	100 %	Balneolia	100 %	Balneolales	100 %	Balneolacea	100 %	Aliifodinibius	100 %
54208	0	0,27	1,65	0,27	1,75	49,13	54208	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Cellvibrional	100 %	Cellvibrionac	100 %	Gilvimarinus	85 %
73466	0,12	0,29	1,61	0,34	1,7	50,83	73466	1	TACGGGAGT	Bacteria	100 %	Cyanobacter	100 %	Cyanobacter	100 %	Family II	100 %	Gpl1a	100 %		
37234	0,4	0	1,49	0,32	1,58	52,4	37234	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Bacteroidia	100 %	Bacteroidale	100 %	Prolixibacter	100 %	Marinilnaga	100 %
62019	0,34	0	1,31	0,3	1,38	53,79	62019	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophagi	100 %	Flavitalea	98 %
136026	0	0,29	1,26	0,29	1,34	55,12	136026	1	TACGGCAGG	Archaea	100 %	Euryarchaeo	100 %	Halobacteria	100 %	Halobacteria	100 %	Halobacteria	100 %	Halorussus	100 %
181558	0	0,31	1,23	0,29	1,3	56,42	181558	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Vibrionales	100 %	Vibrionacea	100 %	Vibrio	91 %
186837	0	0,28	1,21	0,29	1,28	57,7	186837	1	TACGTAGGA	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Clostridia	100 %	Halanaerobi	100 %	Halobacteri	100 %	Halanaerobacter	100 %
64288	0	0,27	1,18	0,29	1,25	58,95	64288	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Balneolaeot	100 %	Balneolia	100 %	Balneolales	100 %	Balneolacea	100 %	Rhodohalobacter	99 %
39298	0,22	0,17	1,14	0,39	1,2	60,16	39298	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Bacteroidia	67 %	Bacteroidale	67 %	Prolixibacter	63 %	Roseimarinus	64 %
20739	0	0,25	1,1	0,29	1,16	61,32	20739	1	TACGGCAGC	Archaea	100 %	Euryarchaeo	100 %	Halobacteria	100 %	Haloferacale	100 %	Halonotiacac	100 %	Halohasta	100 %
34791	0,18	0	1,04	0,19	1,1	62,42	34791	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Cyanobacter	100 %	Cyanobacter	100 %	Family IX	94 %	Halospirulin	94 %		
58670	0,18	0	1,04	0,19	1,1	63,52	58670	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Thiovulacea	100 %	Sulfuricurvum	100 %
171346	0	0,26	1,03	0,29	1,09	64,61	171346	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Arcobacter	100 %	Halarcobacter	100 %
55974	0,16	0,17	1,01	0,39	1,07	65,68	55974	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Alteromonad	100 %	Alteromonad	100 %	Marinobacter	100 %
107748	0,25	0	0,98	0,28	1,04	66,72	107748	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Rhodocyclale	100 %	Azonexacea	100 %	Dechloromonas	100 %
165660	0	0,25	0,98	0,29	1,03	67,75	165660	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospir	100 %	Marinobacte	100 %	Marinobacterium	100 %
80781	0,07	0,21	0,97	0,33	1,03	68,78	80781	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Clostridia	100 %	Clostridiales	100 %	Tissierellace	100 %	Gudongella	94 %
47324	0,11	0,19	0,84	0,35	0,89	69,67	47324	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Sphingomon	100 %	Sphingosinic	98 %	Sandaracinobacter	83 %
46333	0,08	0,18	0,84	0,35	0,89	70,56	46333	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	97 %	Caldimonas	66 %

Groups Confluence & Alkalin

Average dissimilarity = 94,27

Group Confluence Group Alkalin

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Disc/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
108461	0,76	1,3	8,17	0,62	8,66	8,66	108461	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomona	50 %	Thiobacillac	43 %	Sulfuritortus	43 %
14367	0,89	1	6,23	0,77	6,61	15,27	14367	4	TACAGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Nevskiales	98 %	Steroidobact	98 %	Povalibacter	85 %
101092	0,22	1,29	5,87	0,78	6,23	21,5	101092	3	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	85 %
30061	0	0,58	2,95	0,38	3,13	24,63	30061	1	TACAAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Xanthomona	100 %	Arenimonas	100 %
113731	0	0,58	2,93	0,38	3,11	27,74	113731	3	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Planococcac	73 %	Planococcus	70 %
68655	0,7	0	2,85	0,49	3,03	30,76	68655	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	99 %	Chromatiale	98 %	Chromatiace	98 %	Phaeochromatium	67 %
29280	0,69	0	2,83	0,49	3	33,76	29280	1	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Rhodanobact	95 %	Pseudofulvimonas	95 %
84256	0,53	0,19	2,62	0,53	2,78	36,54	84256	2	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	99 %	Sutterellace	67 %	Duodenibacillus	67 %
58670	0,18	0,28	2,6	0,26	2,75	39,29	58670	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Thiovulacea	100 %	Sulfuricurvum	100 %
110411	0,15	0,62	2,48	0,47	2,63	41,92	110411	4	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Propionibact	100 %	Nocardioida	100 %	Marmoricola	99 %
44174	0,17	0,47	2,41	0,51	2,55	44,47	44174	5	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobacter	50 %
30287	0	0,55	1,91	0,54	2,03	46,51	30287	2	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Xanthomona	100 %	Lysobacter	98 %
69717	0,45	0	1,87	0,37	1,98	48,49	69717	5	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospir	100 %	Halomonad	100 %	Halomonas	100 %
64992	0	0,53	1,83	0,53	1,94	50,43	64992	1	TACGGAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Hymenobact	100 %	Adhaerobacter	96 %
37234	0,4	0	1,77	0,3	1,88	52,31	37234	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Bacteroidia	100 %	Bacteroidale	100 %	Prolixibacter	100 %	Marinilnaga	100 %
88952	0,45	0	1,72	0,39	1,83	54,14	88952	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacterium	100 %
39298	0,22	0,23	1,7	0,39	1,8	55,94	39298	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Bacteroidia	67 %	Bacteroidale	67 %	Prolixibacter	63 %	Roseimarinus	64 %
6664	0,24	0,19	1,59	0,37	1,69	57,63	6664	6	GACGGAGGC	Bacteria	100 %	Cyanobacter	100 %	Chloroplast	100 %	Bacillariop	100 %	Bacillariop	100 %		
62019	0,34	0	1,59	0,27	1,68	59,32	62019	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophagi	100 %	Flavitalea	98 %
34791	0,18	0	1,52	0,16	1,62	60,93	34791	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Cyanobacter	100 %	Cyanobacter	100 %	Family IX	94 %	Halospirulin	94 %		
58321	0	0,31	1,31	0,29	1,39	62,33	58321	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Sulfurovacea	100 %	Sulfurovum	100 %
35073	0	0,4	1,27	0,44	1,35	63,68	35073	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrobium	100 %
34987	0	0,36	1,18	0,42	1,25	64,93	34987	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrobium	100 %
107748	0,25	0	1,16	0,27	1,23	66,16	107748	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Rhodocyclale	100 %	Azonexacea	100 %	Dechloromonas	100 %
92789	0	0,29	1,09	0,29	1,16	67,32	92789	1	TACTAGGCG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Oxalobacter	100 %	Ianthinobacterium	83 %
115820	0	0,33	1,08	0,43	1,15	68,46	115820	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Fulvivirgace	100 %	Ohtaekwangia	99 %
106266	0,17	0	1,05	0,18	1,11	69,57	106266	5	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobact	100 %	Vogesella	100 %
35642	0	0,3	1,04	0,41	1,11	70,68	35642	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Sphingobact	100 %	Sphingobact	100 %	Sphingobact	100 %	Daejeonella	54 %

Groups Hypersaline & Alkalin

Average dissimilarity = 94,56

Group Hypersaline Group Alkalin

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Disc/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	% dentity	Class	% dentity	Order	% dentity	Family	% dentity	Genus	% dentity
101092	1,35	1,29	7,45	0,78	7,88	7,88	101092	3	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	85 %
108461	0,21	1,3	5,8	0,69	6,14	14,01	108461	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomona	50 %	Thiobacillac	43 %	Sulfuritortus	43 %
35077	0,7	0,2	4,67	0,42	4,94	18,96	35077	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrobium	100 %
14367	0,5	1	4,5	0,77	4,76	23,71	14367	4	TACAGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Nevskiales	98 %	Steroidobact	98 %	Povalibacter	85 %
88952	0,9	0	3,46	0,64	3,66	27,37	88952	1	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacterium	100 %
62131	0,7	0	3,23	0,47	3,41	30,78	62131	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophagi	100 %	Parasegetibacter	92 %
68655	0,67	0	2,76	0,51	2,92	33,7	68655	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	99 %	Chromatiale	98 %	Chromatiace	98 %	Phaeochromatium	67 %
30061	0	0,58	2,44	0,41	2,58	36,29	30061	1	TACAAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Xanthomona	100 %	Arenimonas	100 %
113731	0	0,58	2,43	0,41	2,57	38,86	113731	3	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Planococcac	73 %	Planococcus	70 %
29280	0,67	0	2,39	0,54	2,52	41,38	29280	1	TACAAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Rhodanobact	95 %	Pseudofulvimonas	95 %
30287	0,21	0,55	2,2	0,6	2,32	43,71	30287	2	TACAAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Xanthomona	100 %	Xanthomona	100 %	Lysobacter	98 %
65913	0,34	0	2,06	0,26	2,18	45,89	65913	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Deltaproteob	100 %	Desulfobacte	100 %	Desulfobulb	100 %	Desulfobulbus	100 %
39906	0,32	0	1,94	0,26	2,05	47,94	39906	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	59 %	Gammaprot	52 %	Chromatiale	51 %	Ectothiorhod	52 %	Inmirania	52 %
64311	0,32	0	1,94	0,26	2,05	49,98	64311	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Balneolaeot	100 %	Balneolia	100 %	Balneolales	100 %	Balneolacea	100 %	Aliifodinibius	100 %
110411	0	0,62	1,78	0,44	1,88	51,87	110411	4	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Propionibact	100 %	Nocardioida	100 %	Marmoricola	99 %		
69717	0,4	0	1,75	0,37	1,85	53,71	69717	5	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospir	100 %	Halomonad	100 %	Halomonas	100 %
54208	0,27	0	1,7	0,26	1,8	55,51	54208	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Cellvibrional	100 %	Cellvibrionac	100 %	Gilvimarinus	85 %
44174	0	0,47	1,64	0,43	1,73	57,24	44174	5	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaprotea	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobacter	50 %
64992	0	0,53	1,63	0,54	1,73	58,97	64992	1	TACGGAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Hymenobact	100 %	Adhaerobacter	96 %
84256	0,25	0,19	1,45	0,41	1,54	60,51	84256	2	TACGTAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	99 %	Sutterellace	67 %	Duodenibacillus	67 %
39298	0,17	0,23	1,34	0,4	1,42	61,93	39298	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Bacteroidia	67 %	Bacteroidale	67 %	Prolixibacter	63 %	Roseimarinus	64 %
73466	0,29	0	1,28	0,28	1,36	63,28	73466	1	TACGGGAGT	Bacteria	100 %	Cyanobacter	100 %	Cyanobacter	100 %	Family II	100 %	Gpl1a	100 %		
136026	0,29	0	1,28	0,28	1,35	64,63	136026	1	TACGGCAGG	Archaea	100 %	Euryarchaeo	100 %	Halobacteria	100 %	Halobacteria	100 %	Halobacteria	100 %	Halorussus	100 %
181558	0,31	0	1,24	0,28	1,31	65,94	181558	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Vibrionales	100 %	Vibrionacea	100 %	Vibrio	91 %
186837	0,28	0	1,23	0,28	1,3	67,24	186837	1	TACGTAGGA	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Clostridia	100 %	Halanaerobi	100 %	Halobacteri	100 %	Halanaerobacter	100 %
64288	0,27	0	1,2	0,28	1,27	68,51	64288	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Balneolaeot	100 %	Balneolia	100 %	Balneolales	100 %	Balneolacea	100 %	Rhodohalobacter	99 %
35073	0	0,4	1,15	0,44	1,21	69,72	35073	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Salinimicrobium	100 %
58321	0	0,31	1,14	0,29	1,21	70,93	58321	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Sulfurovacea	100 %	Sulfurovum	100 %

Tpos_BactZB_b_TAS1																				
cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
28395	5	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	98 %
53340	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Enterobacter	100 %	Enterobacter	100 %	Salmonella	87 %
53801	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Enterobacter	100 %	Enterobacter	100 %	Escherichia/S	99 %
112789	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Staphylococc	100 %	Staphylococc	100 %
113196	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Lactobacillal	100 %	Lactobacillac	100 %	Limosilactob	100 %
114358	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Bacillaceae	100 %	Bacillus	40 %
115159	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Lactobacillal	100 %	Enterococcac	100 %	Enterococcus	100 %
115492	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Listeriaceae	100 %	Listeria	100 %

Note: I have colored in red the genera of bacteria which have less than 80% resemblance to the strains in the genomic databases

I colored the cell in yellow the less than 40%

Group Confluence

Average similarity: 17,11

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
96233	1,61	3,41	0,56	19,91	19,91	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
91951	1,19	2,87	0,55	16,81	36,71	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
87376	1,13	2,01	0,38	11,75	48,47	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
65332	1,01	1,64	0,44	9,58	58,05	65332	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
106266	0,91	1,28	0,21	7,49	65,54	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacte	100 %	Vogesella	100 %
38182	0,9	1,17	0,32	6,84	72,37	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %

Group Hypersaline

Average similarity: 18,19

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	2,06	6,42	0,74	35,33	35,33	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
91951	1,92	6,14	1,09	33,77	69,1	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
35161	1,04	2,03	0,43	11,14	80,24	35161	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %

Group Alkalin

Average similarity: 20,29

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	1,73	4,1	0,52	20,22	20,22	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
96233	1,7	3,52	0,62	17,34	37,56	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
38182	1,42	2,99	0,48	14,73	52,29	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
65332	1,3	2,91	0,57	14,36	66,65	65332	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
107380	0,72	1,02	0,42	5	71,66	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %

Group HotSpring

Average similarity: 10,92

Species	Av.Abund	Av.Sim	Sim/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
106266	1,04	1,64	0,3	15,06	15,06	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacte	100 %	Vogesella	100 %
91951	0,88	1,14	0,26	10,47	25,52	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
90079	0,83	1,06	0,28	9,7	35,22	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
87376	0,81	0,86	0,27	7,91	43,14	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
28395	0,63	0,82	0,24	7,49	50,63	28395	5	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	97 %
88952	0,6	0,57	0,22	5,23	55,86	88952	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
28032	0,58	0,57	0,22	5,18	61,04	28032	2	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
102244	0,58	0,55	0,23	5,08	66,12	102244	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	98 %	Neisseriacea	92 %	Crenobacter	92 %
27515	0,52	0,35	0,13	3,23	69,35	27515	2	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
24481	0,47	0,34	0,19	3,13	72,48	24481	4	TACGAAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhizobiales	100 %	Rhizobiaceae	100 %	Agrobacteriu	100 %

Groups Confluence & Hypersaline

Average dissimilarity = 87,56

Group Confluence Group Hypersaline

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	1,13	2,06	5,69	1,1	6,5	6,5	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
96233	1,61	0,14	4,28	0,99	4,89	11,39	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
91951	1,19	1,92	4,26	1,21	4,86	16,26	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
46333	0,43	1,22	3,92	0,83	4,48	20,73	46333	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	97 %	Caldimonas	96 %
35161	0,26	1,04	3,27	0,83	3,73	24,47	35161	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
65332	1,01	0,49	3,14	0,76	3,58	28,05	65332	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
106266	0,91	0	2,99	0,52	3,41	31,46	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacte	100 %	Vogesella	100 %
38182	0,9	0	2,34	0,66	2,67	34,13	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
61633	0,18	0,55	1,76	0,6	2,01	36,14	61633	3	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophaga	100 %	Sediminibact	100 %
44174	0,3	0,36	1,65	0,62	1,88	38,02	44174	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobact	80 %
69717	0	0,47	1,64	0,34	1,88	39,89	69717	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospirill	100 %	Halomonad	100 %	Halomonas	100 %
65501	0,51	0	1,61	0,47	1,84	41,73	65501	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
50155	0,22	0,46	1,6	0,59	1,82	43,55	50155	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Salipiger	82 %
113012	0	0,58	1,52	0,67	1,74	45,29	113012	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	74 %	Bacteroidia	74 %	Bacteroidale	74 %	Bacteroidac	74 %	Anaerorhabd	74 %
59714	0,57	0	1,39	0,64	1,59	46,88	59714	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	98 %	Saprospirale	98 %	Lewinellacea	76 %	Haliscomenc	76 %
34927	0,09	0,45	1,35	0,58	1,54	48,42	34927	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
90079	0,38	0	1,25	0,4	1,43	49,85	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
40818	0,06	0,31	1,21	0,38	1,39	51,24	40818	3	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Erythrobac	100 %	Porphyrobac	99 %
69317	0	0,41	1,19	0,35	1,35	52,59	69317	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Chromatiale	99 %	Chromatiac	99 %	Thermochro	97 %
56360	0	0,42	1,16	0,35	1,33	53,92	56360	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Alteromonac	100 %	Idiomarinac	100 %	Idiomarina	96 %
116862	0,24	0,25	1,16	0,49	1,32	55,25	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagac	100 %	Fluviimonas	100 %
93037	0,46	0	1,16	0,6	1,32	56,57	93037	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	55 %	Chromobacte	55 %	Chitinilyticun	32 %
31688	0,47	0	1,12	0,59	1,28	57,85	31688	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Haloferula	100 %
64793	0	0,34	1,09	0,34	1,24	59,09	64793	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagac	100 %	Aquirufa	100 %
107380	0,47	0	1,07	0,55	1,22	60,31	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %
11201	0,24	0,16	1,05	0,49	1,2	61,51	11201	6	TACAGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Chromatiale	100 %	Chromatiac	100 %	Rheinheimer	100 %
113968	0,11	0,36	1,04	0,4	1,18	62,69	113968	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Bacillaceae	100 %	Metabacillus	64 %
103533	0,25	0,21	0,99	0,49	1,13	63,82	103533	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	100 %	Polynucleoba	100 %
59478	0,32	0	0,99	0,35	1,13	64,95	59478	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	91 %	Saprospirale	91 %	Saprospirac	81 %	Phaeodactyli	79 %
60658	0,42	0	0,95	0,49	1,09	66,03	60658	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	99 %	Saprospirale	99 %	Lewinellacea	82 %	Haliscomenc	81 %
45855	0	0,27	0,95	0,34	1,08	67,12	45855	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	23 %
54781	0,25	0,14	0,91	0,45	1,04	68,16	54781	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Cellvibrional	99 %	Halieaceae	99 %	Seongchinar	70 %
54285	0	0,23	0,89	0,34	1,01	69,17	54285	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Chromatiac	100 %	Chromatiac	100 %	Halochromat	99 %
105421	0	0,34	0,88	0,35	1,01	70,18	105421	1	TACTGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Rhodocyclale	100 %	Rhodocyclac	100 %	Propionivibri	100 %

Groups Confluence & Alkalin

Average dissimilarity = 81,24

Group Confluence Group Alkalin

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	1,13	1,73	5,26	1,02	6,47	6,47	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
96233	1,61	1,7	4,91	1,11	6,05	12,52	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
38182	0,9	1,42	4,54	0,93	5,58	18,1	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
65332	1,01	1,3	4,21	0,94	5,18	23,28	65332	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
91951	1,19	0,59	3,71	0,94	4,57	27,85	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
106266	0,91	0	3	0,52	3,69	31,54	106266	5	TACTAGTGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacte	100 %	Vogesella	100 %
59478	0,32	0,67	2,98	0,54	3,66	35,2	59478	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	91 %	Saprospirale	91 %	Saprospirac	81 %	Phaeodactyli	79 %
59714	0,57	0,66	2,48	0,84	3,05	38,25	59714	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	98 %	Saprospirale	98 %	Lewinellacea	76 %	Haliscomenc	35 %
46333	0,43	0,48	2,19	0,59	2,7	40,95	46333	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	87 %	Caldimonas	36 %
107380	0,47	0,72	2,18	0,94	2,69	43,64	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %
60658	0,42	0,53	1,88	0,73	2,31	45,95	60658	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	99 %	Saprospirale	99 %	Lewinellacea	82 %	Haliscomenc	81 %
93037	0,46	0,45	1,86	0,84	2,29	48,24	93037	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	55 %	Chromobacte	55 %	Chitinilyticun	32 %
103533	0,25	0,51	1,66	0,53	2,05	50,28	103533	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	100 %	Polynucleoba	100 %
116862	0,24	0,42	1,64	0,59	2,02	52,31	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagac	100 %	Fluviimonas	100 %
65501	0,51	0	1,61	0,47	1,99	54,29	65501	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
59372	0,34	0,46	1,57	0,81	1,93	56,22	59372	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	68 %	Saprospirale	68 %	Saprospirac	64 %	Membranico	57 %
97654	0,2	0,48	1,5	0,62	1,85	58,08	97654	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	55 %	Intrasporang	52 %	Ornithinicoc	50 %
31688	0,47	0,23	1,47	0,72	1,81	59,88	31688	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Haloferula	100 %
90079	0,38	0,12	1,44	0,46	1,78	61,66	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
7006	0,18	0,49	1,44	0,62	1,77	63,44	7006	3	GACGGAGG	Bacteria	100 %	Cyanobacteri	100 %	Chloroplast	100 %	Chloroplast	100 %	Bacillariophy	100 %		
44174	0,3	0,29	1,25	0,64	1,53	64,97	44174	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobact	80 %
61633	0,18	0,28	1,24	0,47	1,52	66,5	61633	3	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophaga	100 %	Sediminibact	100 %
45158	0,14	0,28	1,21	0,48	1,48	67,98	45158	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Sphingosinic	100 %	Sandarakinor	100 %
54781	0,25	0,17	1	0,45	1,23	69,21	54781	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Cellvibrional	99 %	Halieaceae	99 %	Seongchinar	70 %
32004	0	0,41	0,98	0,39	1,2	70,41	32004	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Luteolibacter	100 %

Groups Hypersaline & Alkalin

Average dissimilarity = 88,40

Group Hypersaline Group Alkalin

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	2,06	1,73	5,46	1,08	6,18	6,18	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenopl	100 %
91951	1,92	0,59	4,46	1,34	5,04	11,22	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomoni	100 %	Thiobacillace	100 %	Thiobacillus	100 %
96233	0,14	1,7	4,25	1,1	4,8	16,02	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
38182	0	1,42	4,16	0,82	4,7	20,72	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
65332	0,49	1,3	3,78	0,91	4,28	25	65332	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
46333	1,22	0,48	3,54	0,91	4	29	46333	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	87 %	Caldimonas	36 %
35161	1,04	0	3,11	0,78	3,52	32,52	35161	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
59478	0	0,67	2,41	0,44	2,72	35,24	59478	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	91 %	Saprospirale	91 %	Saprospirac	81 %	Phaeodactyli	79 %
61633	0,55	0,28	1,95	0,64	2,2	37,45	61633	3	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophaga	100 %	Chitinophaga	100 %	Sediminibact	100 %
59714	0	0,66	1,87	0,64	2,12	39,56	59714	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	98 %	Saprospirale	98 %	Lewinellacea	76 %	Haliscomenc	35 %
107380	0	0,72	1,75	0,81	1,98	41,54	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %
116862	0,25	0,42	1,66	0,59	1,88	43,42	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagac	100 %	Fluviimonas	100 %
103533	0,21	0,51	1,63	0,54	1,85	45,27	103533	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	100 %	Polynucleoba	100 %
69717	0,47	0	1,6	0,34	1,81	47,08	69717	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Oceanospirill	100 %	Halomonad	100 %	Halomonas	100 %
44174	0,36	0,29	1,56	0,6	1,77	48,85	44174	5	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobact	80 %
113012	0,58	0	1,49	0,67	1,69	50,54	113012	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	74 %	Bacteroidia	74 %	Bacteroidale	74 %	Bacteroidac	74 %	Anaerorhabd	74 %
93037	0	0,45	1,28	0,64	1,45	51,98	93037	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	55 %	Chromobacte	55 %	Chitinilyticun	32 %
60658	0	0,53	1,28	0,55	1,45	53,43	60658	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	99 %	Saprospirale	99 %	Lewinellacea	82 %	Haliscomenc	81 %
97654	0	0,48	1,21	0,53	1,37	54,8	97654	1	TACTAGTGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	55 %	Intrasporang	52 %	Ornithinicoc	50 %
7006	0	0,49	1,19	0,54	1,34	56,14	7006	3	GACGGAGG	Bacteria	100 %	Cyanobacteri	100 %	Chloroplast	100 %	Chloroplast	100 %	Bacillariophy	100 %		
50155	0,46	0	1,19	0,47	1,34	57,49	50155	4	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Salipiger	82 %
34927	0,45	0	1,17	0,51	1,32	58,81	34927	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
69317	0,41	0	1,16	0,34	1,31	60,12	69317	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Chromatiale	99 %	Chromatiac	99 %	Thermochro	97 %
56360	0,42	0	1,14	0,35	1,29	61,41	56360	2	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaprot	100 %	Alteromonac	100 %	Idiomarinac	100 %	Idiomarina	96 %
59372	0	0,46	1,13	0,66	1,28	62,69	59372	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	68 %	Saprospirale	68 %	Saprospirac	64 %	Membranico	57 %
40818	0,31	0	1,08	0,34	1,22	63,92	40818	3	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Erythrobac	100 %	Porphyrobac	99 %
64793	0,34	0	1,06	0,34	1,2	65,12	64793	1	TACGGAGGC	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagac	100 %	Aquirufa	100 %
32004	0	0,41	0,96	0,39	1,09	66,21	32004	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verruc

Groups Confluence & HotSpring
Average dissimilarity = 90,86

Group Confluence Group HotSpring

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
106266	0,91	1,04	4,68	0,79	5,15	5,15	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
96233	1,61	0,46	4,58	0,99	5,04	10,19	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
91951	1,19	0,88	4,45	0,89	4,9	15,1	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Thiobacillac	100 %	Thiobacillus	100 %
87376	1,13	0,81	4,14	0,85	4,56	19,66	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenoph	100 %
65332	1,01	0,11	3,03	0,68	3,33	22,99	65332	5	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
38182	0,9	0,43	2,97	0,77	3,27	26,26	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
90079	0,38	0,83	2,97	0,72	3,26	29,53	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
28395	0,19	0,63	2,37	0,61	2,61	32,13	28395	5	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	97 %
11201	0,24	0,39	1,73	0,53	1,91	34,04	11201	6	TACAGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Chromatiale	100 %	Chromatiace	100 %	Rheinheimer	100 %
92546	0,16	0,37	1,7	0,38	1,87	35,91	92546	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
27515	0	0,52	1,7	0,39	1,87	37,78	27515	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
88952	0	0,6	1,69	0,52	1,86	39,64	88952	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
28032	0,04	0,58	1,67	0,56	1,84	41,49	28032	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
65501	0,51	0	1,66	0,47	1,83	43,31	65501	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
102244	0	0,58	1,62	0,54	1,79	45,1	102244	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	98 %	Neisseriacea	42 %	Crenobacter	42 %
46333	0,43	0,09	1,59	0,39	1,75	46,85	46333	4	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	87 %	Caldimonas	36 %
61633	0,18	0,47	1,51	0,57	1,66	48,51	61633	3	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Sediminibact	100 %
59714	0,57	0	1,42	0,64	1,57	50,08	59714	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	98 %	Saprospirale	98 %	Lewinellacea	76 %	Haliscomeno	35 %
24481	0,09	0,47	1,35	0,53	1,49	51,57	24481	4	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhizobiales	100 %	Rhizobiacea	100 %	Agrobacteriu	100 %
116862	0,24	0,27	1,24	0,55	1,37	52,93	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagace	100 %	Fluviimonas	100 %
93037	0,46	0	1,19	0,6	1,3	54,24	93037	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	55 %	Chromobacti	55 %	Chitinilyticu	32 %
31688	0,47	0	1,14	0,59	1,26	55,5	31688	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Haloferula	100 %
102638	0,06	0,38	1,14	0,53	1,26	56,75	102638	4	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Methylophili	100 %	Methylophilu	100 %
22835	0,05	0,41	1,11	0,5	1,22	57,98	22835	3	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Caulobacter	100 %	Caulobacter	100 %	Brevundimon	57 %
74656	0	0,4	1,11	0,43	1,22	59,2	74656	1	TACGGGGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Arcobacter	100 %	Aliarcobacte	99 %
107380	0,47	0	1,09	0,55	1,2	60,4	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %
59478	0,32	0	1,02	0,35	1,12	61,52	59478	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	91 %	Saprospirale	91 %	Saprospirace	81 %	Phaeodactyli	79 %
60658	0,42	0	0,97	0,49	1,07	62,59	60658	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	99 %	Saprospirale	99 %	Lewinellacea	82 %	Haliscomeno	81 %
58670	0	0,36	0,94	0,41	1,03	63,63	58670	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Thiovulacea	100 %	Sulfuricurvu	100 %
35161	0,26	0,08	0,86	0,41	0,95	64,58	35161	4	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
59372	0,34	0	0,8	0,49	0,88	65,46	59372	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	68 %	Saprospirale	68 %	Saprospirace	64 %	Membranico	57 %
105523	0	0,28	0,79	0,34	0,87	66,33	105523	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	62 %	Alcaligenace	56 %	Derxia	100 %
41625	0	0,3	0,79	0,32	0,87	67,2	41625	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Sphingomon	100 %	Sphingopyxis	47 %
44174	0,3	0	0,78	0,46	0,85	68,05	44174	5	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobacti	80 %
60460	0,3	0	0,77	0,45	0,84	68,9	60460	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	100 %	Saprospirale	100 %	Saprospirace	64 %	Phaeodactyli	64 %
15380	0,08	0,18	0,74	0,32	0,82	69,72	15380	1	TACAGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	51 %	Gammaproti	35 %	Thiotrichales	17 %	Fastidiosiba	14 %	Fastidiosiba	35 %
102807	0	0,24	0,73	0,29	0,8	70,52	102807	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	98 %	Gallionellace	56 %	Sideroxydans	100 %

Groups Hypersaline & HotSpring
Average dissimilarity = 92,56

Group Hypersaline Group HotSpring

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	2,06	0,81	5,91	1,07	6,38	6,38	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenoph	100 %
91951	1,92	0,88	5,07	1,21	5,47	11,86	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Thiobacillac	100 %	Thiobacillus	100 %
46333	1,22	0,09	3,49	0,8	3,77	15,63	46333	4	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	87 %	Caldimonas	36 %
35161	1,04	0,08	3,21	0,8	3,47	19,1	35161	4	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
106266	0	1,04	3,15	0,63	3,4	22,5	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
90079	0	0,83	2,29	0,61	2,48	24,98	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
61633	0,55	0,47	2,17	0,71	2,34	27,32	61633	3	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Sediminibact	100 %
28395	0	0,63	1,96	0,55	2,12	29,44	28395	5	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	97 %
69717	0,47	0,07	1,79	0,37	1,94	31,38	69717	5	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Oceanospirill	100 %	Halomonada	100 %	Halomonas	100 %
88952	0	0,6	1,65	0,52	1,79	33,17	88952	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
27515	0	0,52	1,65	0,39	1,78	34,95	27515	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
28032	0	0,58	1,59	0,54	1,72	36,67	28032	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
102244	0	0,58	1,59	0,54	1,72	38,39	102244	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	98 %	Neisseriacea	42 %	Crenobacter	42 %
96233	0,14	0,46	1,57	0,51	1,69	40,08	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
113012	0,58	0	1,53	0,67	1,65	41,73	113012	1	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	74 %	Bacteroidia	74 %	Bacteroidale	74 %	Bacteroidac	74 %	Anaerorhabd	74 %
24481	0,22	0,47	1,52	0,59	1,65	43,38	24481	4	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhizobiales	100 %	Rhizobiacea	100 %	Agrobacteriu	100 %
11201	0,16	0,39	1,49	0,49	1,6	44,98	11201	6	TACAGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Chromatiale	100 %	Chromatiace	100 %	Rheinheimer	100 %
64793	0,34	0,16	1,46	0,44	1,57	46,55	64793	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagace	100 %	Aquirufa	100 %
65332	0,49	0,11	1,36	0,54	1,47	48,02	65332	5	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
69317	0,41	0,07	1,35	0,39	1,45	49,48	69317	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Chromatiale	99 %	Chromatiace	99 %	Thermochror	97 %
74656	0,15	0,4	1,31	0,52	1,42	50,89	74656	1	TACGGGGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Arcobacter	100 %	Aliarcobacte	99 %
116862	0,25	0,27	1,29	0,54	1,39	52,29	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagace	100 %	Fluviimonas	100 %
92546	0	0,37	1,29	0,31	1,39	53,68	92546	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
50155	0,46	0	1,21	0,47	1,31	54,99	50155	4	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Saliniger	82 %
40818	0,31	0,04	1,2	0,37	1,3	56,29	40818	3	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Erythrobacte	100 %	Porphyrobact	99 %
38182	0	0,43	1,2	0,41	1,3	57,59	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
34927	0,45	0	1,19	0,51	1,29	58,88	34927	2	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
44174	0,36	0	1,19	0,45	1,29	60,17	44174	5	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Gemmobacti	80 %
56360	0,42	0	1,17	0,35	1,26	61,43	56360	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Alteromonac	100 %	Idiomarinac	100 %	Idiomarina	96 %
45855	0,27	0,06	1,07	0,38	1,15	62,58	45855	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	100 %	Rhodobacter	23 %
102638	0	0,38	1,03	0,49	1,11	63,7	102638	4	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Methylophili	100 %	Methylophilu	100 %
22835	0	0,41	0,99	0,46	1,07	64,76	22835	3	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Caulobacter	100 %	Caulobacter	100 %	Brevundimon	57 %
58226	0,29	0,1	0,92	0,4	1	65,76	58226	3	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Arcobacter	100 %	Pseudarcoba	100 %
58670	0	0,36	0,92	0,41	1	66,76	58670	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Thiovulacea	100 %	Sulfuricurvu	100 %
54285	0,23	0	0,89	0,34	0,96	67,72	54285	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Chromatiale	100 %	Chromatiace	100 %	Halochromat	99 %
105421	0,34	0	0,89	0,35	0,96	68,68	105421	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Rhodocyclale	100 %	Rhodocyclac	100 %	Propionivibri	100 %
113968	0,36	0	0,83	0,35	0,9	69,57	113968	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Firmicutes	100 %	Bacilli	100 %	Bacillales	100 %	Bacillaceae	100 %	Metabacillus	64 %
105523	0	0,28	0,78	0,34	0,84	70,41	105523	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	62 %	Alcaligenace	56 %	Derxia	100 %

Groups Alkalin & HotSpring
Average dissimilarity = 93,18

Group Alkalin Group HotSpring

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%	cluster id	clustersize	sequence	Domaine	% identity	Phylum	%i dentity	Class	%i dentity	Order	%i dentity	Family	%i dentity	Genus	%i dentity
87376	1,73	0,81	5,12	0,97	5,5	5,50+A247:A	87376	14	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	100 %	Hydrogenoph	100 %
96233	1,7	0,46	4,49	1,07	4,82	10,31	96233	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	100 %	Microbacteri	99 %	Rhodoluna	75 %
38182	1,42	0,43	4,41	0,87	4,73	15,04	38182	1	TACGGAGGA	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	96 %	Flavobacteri	96 %	Cryomorphac	86 %	Phaeocystidi	86 %
65332	1,3	0,11	3,9	0,88	4,19	19,23	65332	5	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cyclobacteri	100 %	Algoriphagus	100 %
91951	0,59	0,88	3,54	0,7	3,8	23,03	91951	19	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Thiobacillac	100 %	Thiobacillus	100 %
106266	0	1,04	3,16	0,62	3,39	26,42	106266	5	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
59478	0,67	0	2,5	0,44	2,68	29,1	59478	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	91 %	Saprospirale	91 %	Saprospirace	81 %	Phaeodactyli	79 %
90079	0,12	0,83	2,43	0,66	2,6	31,71	90079	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	99 %	Limnobacter	99 %
28395	0	0,63	1,97	0,54	2,11	33,82	28395	5	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	97 %
59714	0,66	0	1,92	0,64	2,06	35,88	59714	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	98 %	Saprospirale	98 %	Lewinellacea	76 %	Haliscomeno	35 %
107380	0,72	0	1,79	0,81	1,92	37,8	107380	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	86 %	Burkholderia	56 %	Quisquiliibac	43 %
61633	0,28	0,47	1,75	0,62	1,88	39,68	61633	3	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Chitinophagi	100 %	Sediminibact	100 %
116862	0,42	0,27	1,73	0,63	1,85	41,54	116862	2	TACGTAGGT	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Cytophagia	100 %	Cytophagale	100 %	Cytophagace	100 %	Fluviimonas	100 %
88952	0	0,6	1,66	0,52	1,78	43,31	88952	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %	Flavobacteri	100 %
27515	0	0,52	1,66	0,39	1,78	45,09	27515	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
28032	0	0,58	1,59	0,54	1,71	46,8	28032	2	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %	Pseudomona	100 %
102244	0	0,58	1,59	0,54	1,71	48,51	102244	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	98 %	Neisseriacea	42 %	Crenobacter	42 %
102638	0,3	0,38	1,5	0,65	1,61	50,12	102638	4	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Nitrosomonz	100 %	Methylophili	100 %	Methylophilu	100 %
46333	0,48	0,09	1,34	0,69	1,44	51,56	46333	4	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Comamonad	87 %	Caldimonas	36 %
93037	0,45	0	1,32	0,64	1,41	52,97	93037	3	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	55 %	Chromobacti	55 %	Chitinilyticun	32 %
60658	0,53	0	1,31	0,55	1,4	54,37	60658	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	99 %	Saprospirale	99 %	Lewinellacea	82 %	Haliscomeno	81 %
92546	0	0,37	1,29	0,31	1,39	55,76	92546	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Neisseriales	100 %	Chromobacti	100 %	Vogesella	100 %
103533	0,51	0	1,29	0,43	1,38	57,15	103533	2	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	100 %	Burkholderia	100 %	Polynucleoba	100 %
97654	0,48	0	1,24	0,53	1,33	58,48	97654	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Actinobacter	100 %	Actinobacter	100 %	Micrococcale	55 %	Intrasporang	52 %	Ornithinicoc	50 %
7006	0,49	0	1,21	0,55	1,3	59,78	7006	3	GACGGAGGA	Bacteria	100 %	Cyanobacteri	100 %	Chloroplast	100 %	Chloroplast	100 %	Bacillariophy	100 %		
24481	0	0,47	1,2	0,49	1,29	61,07	24481	4	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Rhizobiales	100 %	Rhizobiacea	100 %	Agrobacteriu	100 %
11201	0	0,39	1,19	0,39	1,28	62,35	11201	6	TACAGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Gammaproti	100 %	Chromatiale	100 %	Chromatiace	100 %	Rheinheimer	100 %
59372	0,46	0	1,16	0,66	1,25	63,59	59372	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Bacteroidete	100 %	Saprospiria	68 %	Saprospirale	68 %	Saprospirace	64 %	Membranico	57 %
74656	0	0,4	1,09	0,43	1,17	64,76	74656	1	TACGGGGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Arcobacter	100 %	Aliarcobacte	99 %
22835	0	0,41	0,99	0,46	1,06	65,82	22835	3	TACGAAGGG	Bacteria	100 %	Alphaproteo	100 %	Alphaproteo	100 %	Caulobacter	100 %	Caulobacter	100 %	Brevundimon	57 %
32004	0,41	0	0,98	0,39	1,05	66,88	32004	1	TACGAAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Luteolibacte	100 %
16970	0,4	0	0,96	0,44	1,03	67,91	16970	3	TACAGAGGT	Bacteria	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Verrucomicr	100 %	Prosthecoba	100 %
45158	0,28	0	0,93	0,4	1	68,91	45158	1	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Alphaproteo	100 %	Sphingomon	100 %	Sphingosinic	100 %	Sandarakino	100 %
58670	0	0,36	0,92	0,41	0,99	69,9	58670	2	TACGGAGGG	Bacteria	100 %	Campilobact	100 %	Campylobact	100 %	Campylobact	100 %	Thiovulacea	100 %	Sulfuricurvu	100 %
105523	0	0,28	0,78	0,34	0,83	70,73	105523	1	TACGTAGGG	Bacteria	100 %	Proteobacter	100 %	Betaproteob	100 %	Burkholderia	62 %	Alcaligenace	56 %	Derxia	100 %

ANNEXE.H

Tableau S10. Comparaison des modèles expliquant la bêta-diversité des communautés aquatiques à partir du métabarcodage 16S et COI. Les cellules du tableau contiennent les valeurs de p pour les facteurs (rangées) issus de 4 modèles PERMANOVA distincts (colonnes). Pour les deux marqueurs, le meilleur modèle, selon la racine carrée de la variation résiduelle, est celui avec les sites et le mois (pas d'interaction possible), et le moins bon modèle est celui avec l'habitat et les mois (et leur interaction). NR signifie non pertinent (c'est-à-dire lorsqu'un facteur ou une interaction n'est pas dans le modèle, n.s. signifie non significatif)

P-value des facteurs de différents model des échantillons d'eau -	**Site x Mois**	**Habitat x Mois**	**Sub-network x Mois**	**Habitat x Sub-network x Mois**
16S métabarcodage				
Site (6)	**0.0001**	NR	NR	NR
Sub-Network (2)	NR	NR	**0.0001**	**0.0057**
Habitat (4)	NR	**0.0009**	NR	**0.0107**
Mois (12)	**0.0032**	0.2822 (n.s.)	0.0775 (n.s.)	0.2779 (n.s.)
Habitat*Sub-N	NR	NR	NR	**0.0109**
Other interactions	NR	0.9944 (n.s.)	0.4268 (n.s.)	Both >0.95 (n.s.)
Sq.root (Residual variation)	56,785 Meilleur	63.606 worst	60.402 2ème Meilleur	61.367 3ème
COI métabarcodage				
Site (6)	**0.0001**	NR	NR	NR
Sub-Network (2)	NR	NR	**0.0001**	**0.0023**
Habitat (4)	NR	**0.0005**	NR	**0.0041**
Mois (12)	**0.0001**	**0.04**	**0.0001**	**0.013**
Habitat*Sub-N	NR	NR	NR	**0.0025**
Sub-basin * mois	NR	NR	**0.0475**	0.487 (n.s.)
Autres interactions	NR	1 (n.s.)	NR	0.9745 (n.s.)
Sq.root (Residual variation)	61.482 Meilleur	68.305 worst	63.713 3ème	62.89 2ème meilleur

Tableaux S11. Résultats d'analyses distLM des données 16s et COI en utilisant les données environnementales.

16S

MARGINAL TESTS

Variable	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.
salinité	5614,5	1,4151	0,094	0,020683
ammonium	5834,2	1,4716	0,073	0,021493
pH	9283,1	2,3724	0,007	0,034198
T°C	10629	2,7303	0,005	0,039155
oxygène	8088,5	2,0577	0,012	0,029797
ortho	5444	1,3712	0,117	0,020055

res.df: 67

SEQUENTIAL TESTS

Variable	AICc	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.	Cumul.	res.df
+T°C	572,57	10629	2,7303	0,003	0,039155	0,039155	67
+pH	572,47	8480,9	2,2182	0,005	0,031243	0,070397	66

COI

MARGINAL TESTS

Variable	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.
salinité	7509,4	1,6552	0,004	0,024108
ortho	5435,6	1,19	0,148	0,017451
ammonium	5073,2	1,1093	0,217	0,016287
pH	8856,5	1,9608	0,001	0,028433
T°C	10121	2,25	0,001	0,032491
oxygène	5705,6	1,2502	0,111	0,018317

res.df: 67

SEQUENTIAL TESTS

Variable	AIC	SS(trace)	Pseudo-F	P	Prop.	Cumul.	res.df
+T°C	582,36	10121	2,25	0,001	0,032491	0,032491	67
+pH	582,3	8867,6	2,0009	0,002	0,028469	0,06096	66
+salinité	582,2	8750,5	2,0045	0,001	0,028093	0,089053	65

ANNEXE.I

Résultats PERMANOVA

PERMANOVA
Permutational MANOVA

Resemblance worksheet
Name: Resem11
Data type: Similarity
Selection: All
Standardise Samples by Total
Transform: Log(X+1)
Resemblance: S17 Bray-Curtis similarity

Sums of squares type: Type III (partial)
Fixed effects sum to zero for mixed terms
Permutation method: Permutation of residuals under a reduced model
Number of permutations: 9999

Factors

Name	Abbrev.	Type	Levels
sub-basin	su	Fixed	2
Month	Mo	Fixed	12

PERMANOVA table of results

Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
su	1	17571	17571	4,8159	0,0001	9920
Mo	11	47738	4339,8	1,1895	0,0775	9763
suxMo	11	40895	3717,7	1,019	0,4268	9779
Res	45	1,6418E+05	3648,4			
Total	68	2,7145E+05				

Details of the expected mean squares (EMS) for the model

Source	EMS
su	1*V(Res) + 33,882*S(su)
Mo	1*V(Res) + 5,6957*S(Mo)
suxMo	1*V(Res) + 2,8478*S(suxMo)
Res	1*V(Res)

Construction of Pseudo-F ratio(s) from mean squares

Source	Numerator	Denominator	Num.df	Den.df
su	1*su	1*Res	1	45
Mo	1*Mo	1*Res	11	45
suxMo	1*suxMo	1*Res	11	45

Estimates of components of variation

Source	Estimate	Sq.root
S(su)	410,9	20,271
S(Mo)	121,38	11,017
S(suxMo)	24,322	4,9318
V(Res)	3648,4	60,402

PERMANOVA
Permutational MANOVA

Resemblance worksheet
Name: Resem11
Data type: Similarity
Selection: All
Standardise Samples by Total
Transform: Log(X+1)
Resemblance: S17 Bray-Curtis similarity

Sums of squares type: Type III (partial)
Fixed effects sum to zero for mixed terms
Permutation method: Permutation of residuals under a reduced model
Number of permutations: 9999

Factors

Name	Abbrev.	Type	Levels
site	si	Fixed	6
Month	Mo	Fixed	12

Excluded terms
sitexMonth

PERMANOVA table of results

Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
si	5	55509	11102	3,4429	0,0001	9836
Mo	11	47759	4341,7	1,3465	0,0032	9740
Res	52	1,6768E+05	3224,5			
Total	68	2,7145E+05				

Details of the expected mean squares (EMS) for the model

Source	EMS
si	1*V(Res) + 11,4*S(si)
Mo	1*V(Res) + 5,7273*S(Mo)
Res	1*V(Res)

Construction of Pseudo-F ratio(s) from mean squares

Source	Numerator	Denominator	Num.df	Den.df
si	1*si	1*Res	5	52
Mo	1*Mo	1*Res	11	52

Estimates of components of variation

Source	Estimate	Sq.root
S(si)	690,98	26,287
S(Mo)	195,06	13,966
V(Res)	3224,5	56,785

PERMANOVA
Permutational MANOVA

Resemblance worksheet
Name: Resem11
Data type: Similarity
Selection: All
Standardise Samples by Total
Transform: Log(X+1)
Resemblance: S17 Bray-Curtis similarity

Sums of squares type: Type III (partial)
Fixed effects sum to zero for mixed terms
Permutation method: Permutation of residuals under a reduced model
Number of permutations: 9999

Factors

Name	Abbrev.	Type	Levels
Habitat	Ha	Fixed	4
Month	Mo	Fixed	12

PERMANOVA table of results

Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
Ha	3	30512	10171	2,514	0,0009	9899
Mo	11	47917	4356,1	1,0767	0,2822	9809
HaxMo**	30	95493	3183,1	0,78679	0,9944	9715
Res	24	97096	4045,7			
Total	68	2,7145E+05				

** Term has one or more empty cells

Details of the expected mean squares (EMS) for the model

Source	EMS
Ha	1*V(Res) + 16,184*S(Ha)
Mo	1*V(Res) + 5,1061*S(Mo)
HaxMo	1*V(Res) + 1,4756*S(HaxMo)
Res	1*V(Res)

Construction of Pseudo-F ratio(s) from mean squares

Source	Numerator	Denominator	Num.df	Den.df
Ha	1*Ha	1*Res	3	24
Mo	1*Mo	1*Res	11	24
HaxMo	1*HaxMo	1*Res	30	24

Estimates of components of variation

Source	Estimate	Sq.root
S(Ha)	378,45	19,454
S(Mo)	60,795	7,7971
S(HaxMo)	-584,57	-24,178
V(Res)	4045,7	63,606

PERMANOVA
Permutational MANOVA

Resemblance worksheet
Name: Resem11
Data type: Similarity
Selection: All
Standardise Samples by Total
Transform: Log(X+1)
Resemblance: S17 Bray-Curtis similarity

Sums of squares type: Type III (partial)
Fixed effects sum to zero for mixed terms
Permutation method: Permutation of residuals under a reduced model
Number of permutations: 9999

Factors

Name	Abbrev.	Type	Levels
Habitat	Ha	Fixed	4
sub-basin	su	Fixed	2
Month	Mo	Fixed	12

Excluded terms
HabitatxsubbasinxMonth

PERMANOVA table of results

Source	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)	Unique perms
Ha	3	24734	8244,8	2,1893	0,0107	9925
su	1	12373	12373	3,2857	0,0057	9932
Mo	11	45893	4172	1,1079	0,2779	9821
Haxsu**	1	12540	12540	3,3298	0,0109	9951
HaxMo**	30	85186	2839,5	0,75401	0,9813	9801
suxMo	11	30758	2796,2	0,74251	0,9504	9853
Res	11	41425	3765,9			
Total	68	2,7145E+05				

** Term has one or more empty cells

Details of the expected mean squares (EMS) for the model

Source	EMS
Ha	1*V(Res) + 14,919*S(Ha)
su	1*V(Res) + 24*S(su)
Mo	1*V(Res) + 4,9697*S(Mo)
Haxsu	1*V(Res) + 12*S(Haxsu)
HaxMo	1*V(Res) + 1,3667*S(HaxMo)
suxMo	1*V(Res) + 2*S(suxMo)
Res	1*V(Res)

Construction of Pseudo-F ratio(s) from mean squares

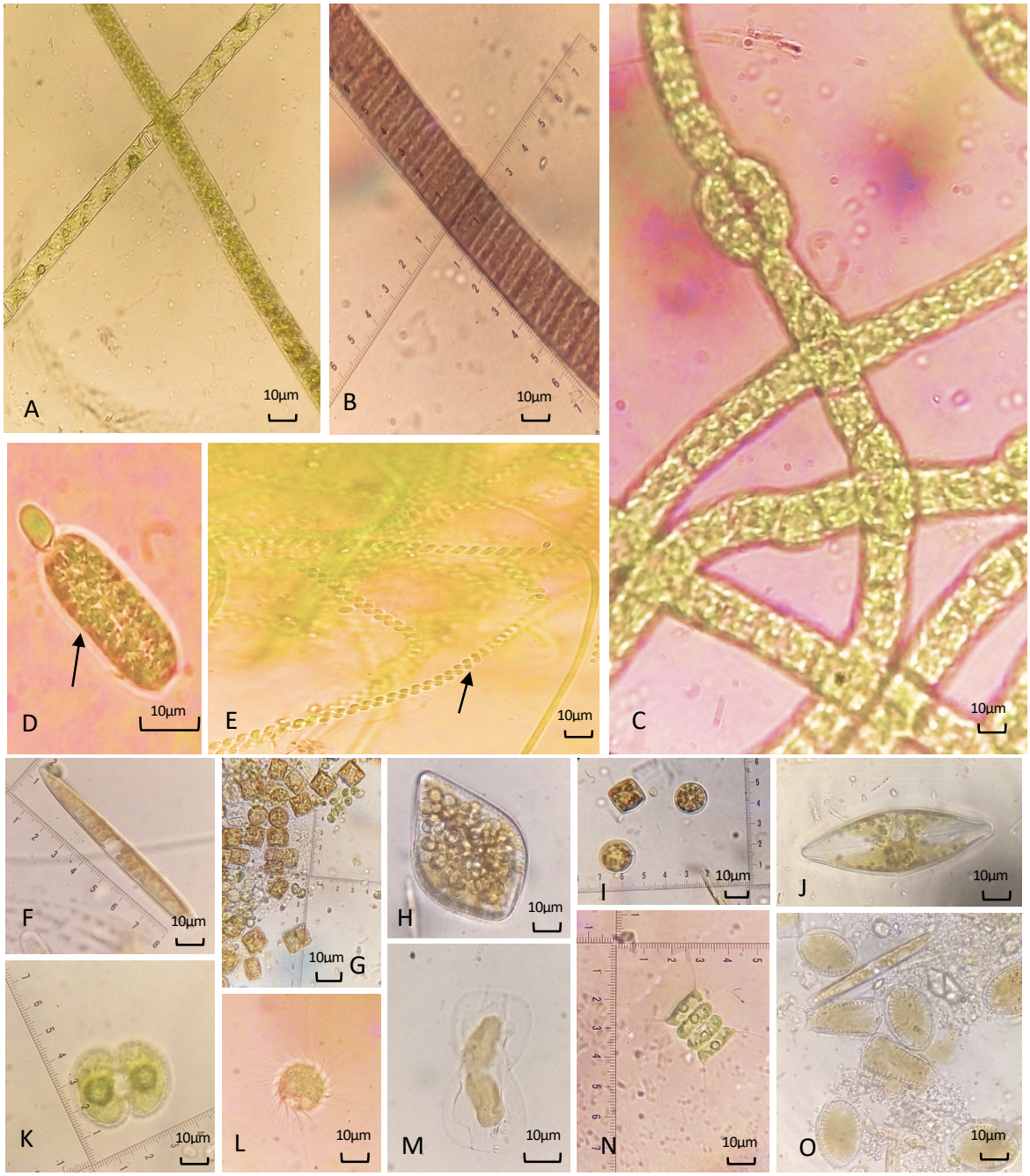
Source	Numerator	Denominator	Num.df	Den.df
Ha	1*Ha	1*Res	3	11
su	1*su	1*Res	1	11
Mo	1*Mo	1*Res	11	11
Haxsu	1*Haxsu	1*Res	1	11
HaxMo	1*HaxMo	1*Res	30	11
suxMo	1*suxMo	1*Res	11	11

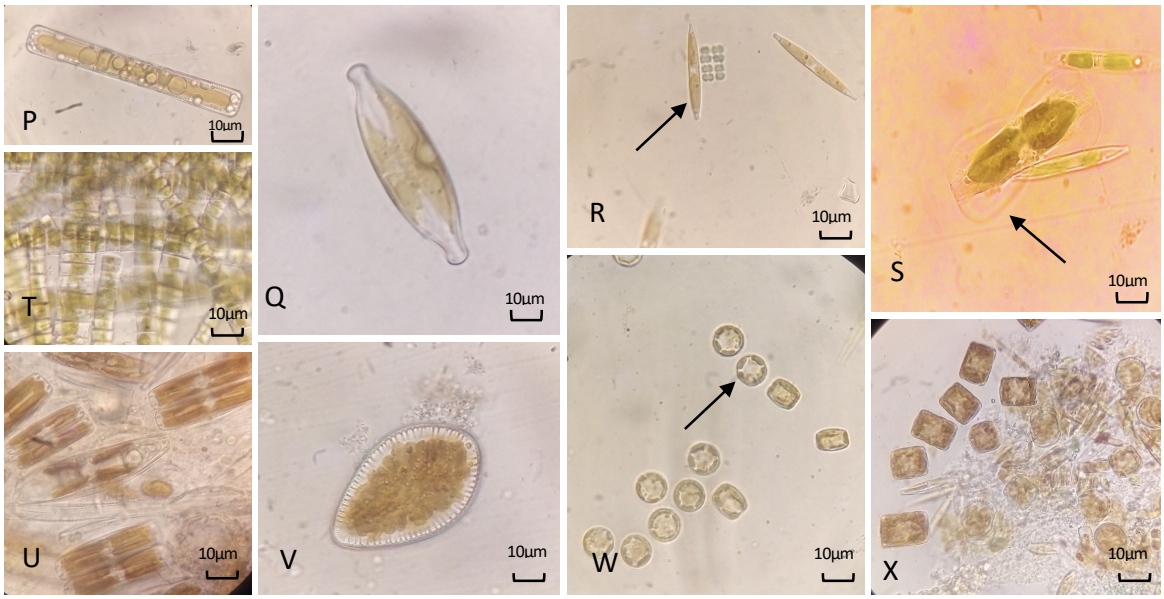
Estimates of components of variation

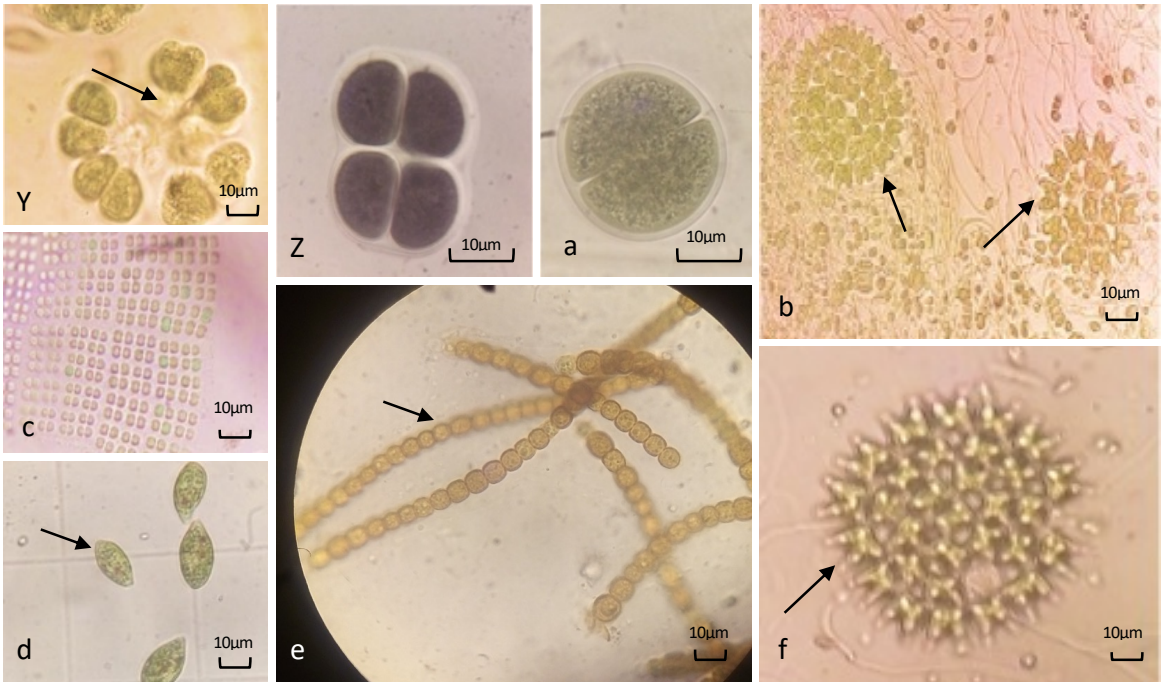
Source	Estimate	Sq.root
S(Ha)	300,22	17,327
S(su)	358,65	18,938
S(Mo)	81,728	9,0403
S(Haxsu)	731,15	27,04
S(HaxMo)	-677,82	-26,035
S(suxMo)	-484,85	-22,019
V(Res)	3765,9	61,367

ANNEXE.J

Résultats des observations microscopiques des échantillons d'eau du Chott Ech Chergui.




P
10µm
Q
10µm
R
10µm
S
10µm
T
10µm
U
10µm
V
10µm
W
10µm
X
10µm


Y
10µm
Z
10µm
a
10µm
b
10µm
c
10µm
d
10µm
e
10µm
f
10µm

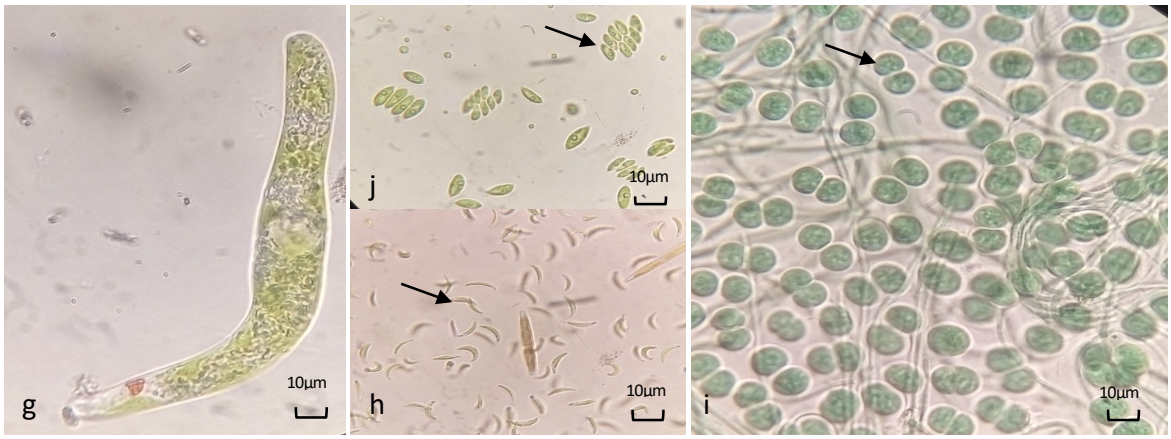

g
10µm
j
10µm
h
10µm
i
10µm

Figure S1. Photos microscopiques (microscope optique ×100) °des principeaux genres de phytoplancton présentent au niveau des échantillons d'eau du Chott Ech Chergui (Site : 2 ; 5 et 6)(AQUABIOR, 2019) identifié en utilisant la clé d'identification .A : *Spirogyra sp*, B :*Oscilatoria sp*, C : Cyanobactérie, D : Akinettes , E : *Spirulina sp*, F : *Nitzschia palea*, G :diatomées, H : *Surirella sp*, I :*Cyclotella sp,* J *: Cymbella sp*, K : *Cosmarium sp*, L : *Acanthocystis sp*, M : *Entomoneis sp* , N : *Scenedesmus quadricauda*, O :Diatomées ,P : *Pinnularia sp* ;Q : *Craticula sp*;R : *Nitzschia sp* ;S : *Entomoneis sp* ;T : *Chaetoceros sp* ;U :*Pinnularia sp*, V : *Surirella sp*, W : *Cyclotella sp* ;X: Diatomées, Y: *Botryococcus sp*, Z : *Chroococcus sp,* a: *Chroococcus sp*, b-f : *Pediastrum sp*, c: *Merismopedia sp*, d: *Euglena sp,* e: *Nostoc sp*, g: *Euglena gracilis* , h: *Selenastrum sp*, i: *Chroococcidiopsis sp* j : *Scenedesmus sp.*

L'effet de l'exposition de la souche *Scenedesmus* sp au cadmium et au cuivre en fonction du temps.

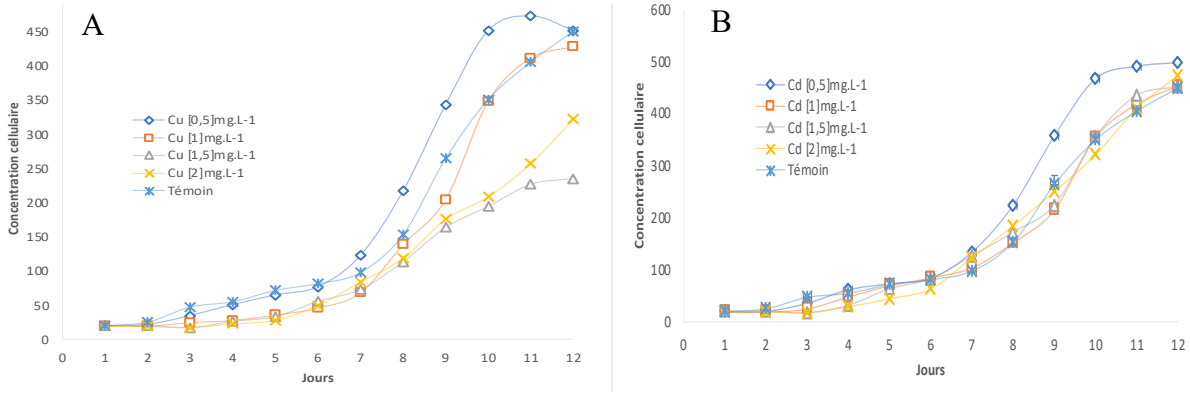
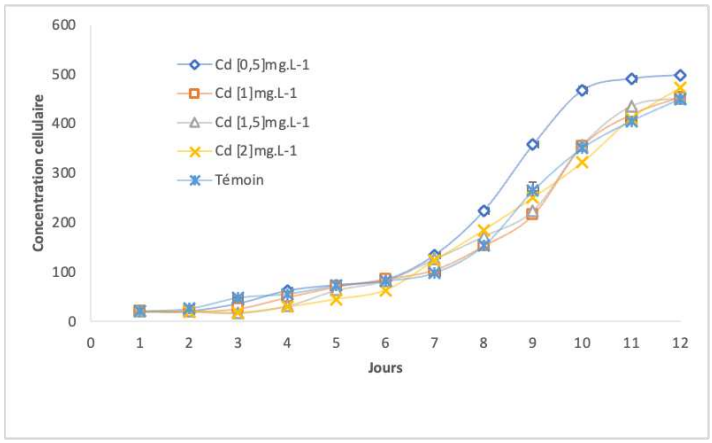


Figure S2. Évolution temporelle de la concentration cellulaire de *Scendesmus sp* cultivée sous différentes concentrations de cuivre (A) et Cadmium(B) (n=3).


600
500
400
300
200
100
0
Concentration cellulaire
Cd [0,5]mg.L-1
Cd [1]mg.L-1
Cd [1,5]mg.L-1
Cd [2]mg.L-1
Témoin
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
Jours