



**HAL**  
open science

**Dynamique des Bdellovibrio et organismes apparentés  
soumis à une situation de stress dans le Léman Resp:  
Stéphan Jacquet**

Adrian Janicot

► **To cite this version:**

Adrian Janicot. Dynamique des Bdellovibrio et organismes apparentés soumis à une situation de stress dans le Léman Resp: Stéphan Jacquet. Sciences de l'environnement. 2020. hal-02916801

**HAL Id: hal-02916801**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02916801>**

Submitted on 18 Aug 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ DE RENNES I



Université de Bretagne Occidentale

UNIVERSITÉ DE BRETAGNE  
OCCIDENTALE

**MASTER SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTE**

**Mention MICROBIOLOGIE**

**Parcours**

**Microbiologie Fondamentale et Appliquée**

2019-2020

**Dynamique des *Bdellovibrio* et organismes apparentés soumis à une situation de stress dans le Léman**

par Adrian JANICOT

Stage effectué sous la direction de **Stéphan JACQUET (DR2, INRAE)** au sein de l'UMR CARTELL, 75 bis avenue de Corzent, CS 50511 74203 Thonon-les-Bains cedex

UNIVERSITÉ DE RENNES I

UNIVERSITÉ DE BRETAGNE  
OCCIDENTALE

**MASTER SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTE**

**Mention MICROBIOLOGIE**

**Parcours**

**Microbiologie Fondamentale et Appliquée**

2019-2020

**Dynamique des *Bdellovibrio* et organismes apparentés soumis à une situation de stress dans le Léman**

par Adrian JANICOT

Stage effectué sous la direction de **Stépan JACQUET (DR2, INRAE)** au sein de l'UMR CARTEL, 75 bis avenue de Corzent, CS 50511 74203 Thonon-les-Bains cedex



## Préambule

Le présent rapport porte sur mon stage de deuxième année de master, mention Microbiologie, parcours Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Ce stage, effectué durant l'année universitaire 2019-2020, entre le 13 janvier 2019 et le 13 juillet 2019, a consisté à participer à un programme de recherche ambitieux, appelé C-BALO. Pour ma part, il s'est agi d'analyser l'impact d'une situation multi-stress simulant un événement extrême (e.g. apport en matière organique, fort brassage de la colonne d'eau et abattement de la lumière incidente) sur la dynamique d'un groupe de bactéries prédatrices dénommés *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs).

Imaginé et encadré par Stéphane Jacquet (DR2, INRAE) au sein de l'UMR CARRTEL, en appui de la thèse de Jade EZZEDINE (co-encadrant), mon stage n'a bien évidemment pas échappé aux perturbations engendrées par la pandémie liée au coronavirus COVID-19. Ainsi, le déroulé du stage, établi par mon responsable de stage, devait consister en une grande variété d'analyses dont certaines n'ont tout simplement pas pu être conduites. Toutefois, un certain nombre d'analyses a pu être effectué avant la période de confinement et j'ai donc pu travailler sur les données que j'ai obtenues moi-même (typiquement les abondances pour divers groupes bactériens par qPCR, après extraction d'ADN, vérification des quantités et qualités, élaboration des gammes) et d'autres données mises à ma disposition (paramètres environnementaux, abondances cellulaires obtenues en cytométrie).

Le confinement m'a empêché de terminer les quantifications de certaines abondances bactériennes (préparation de la gamme de qPCR des bactéries totales) et d'obtenir des données sur la diversité des BALOs. Cette période, entre la mi-mars et fin mai, a donc été logiquement mise à profit pour interpréter au mieux mes données, faire des recherches sur les tests statistiques à employer, approfondir mes connaissances sur la littérature associée au sujet, en maintenant un lien privilégié avec mon maître de stage.

Au final, et bien qu'incomplet, ce rapport de stage permet malgré tout de proposer une vision assez fine de résultats portant sur la dynamique des bactéries totales et d'un groupe fonctionnel de prédateurs bactériens, les *Bdellovibrio* et organismes apparentés, soumis à une situation de stress dans le Léman.

**Matériel Bureautique et informatique :**

**Ordinateur** : avec webcam, micro et haut-parleurs fonctionnels et casque audio

**Connexion internet** : Wifi collective

**Téléphone** : 06 38 19 90 63

## Remerciements

Je tiens à remercier Isabelle DOMAIZON (DR2, INRAE), directrice de l'UMR CARRETEL depuis 2020, pour m'avoir accueilli au sein du site thononais du laboratoire et facilité mon retour après le confinement.

Je voudrais surtout remercier Stéphan JACQUET, mon tuteur durant ce stage, pour m'avoir recruté puis fait confiance pour traiter une partie importante de son projet C-BALO. Je tiens aussi à lui affirmer ma reconnaissance pour sa disponibilité, ses conseils, la mise à disposition de nombreuses données qu'il a lui-même acquies et les multiples corrections proposées sur ce rapport, écrit et échangé tout au long du stage.

Je ne peux et ne veux pas oublier dans ces remerciements Jade EZZEDINE (doctorant en troisième année de thèse, porteur du projet C-BALO), pour son éternelle bonne humeur et surtout pour tout le temps qu'il a passé avec moi à la paillasse ou à son bureau pour me présenter sa thèse, discuter de mon stage, répondre à mes questions, etc...

Je voudrais aussi remercier Cécile CHARDON et Louis JACAS pour avoir pris le temps de me former à différentes méthodes de laboratoire et pour tous leurs conseils à la paillasse.

Je remercie aussi toutes les personnes avec qui, pendant le confinement, j'ai pu discuter statistiques et analyses multivariées.

Je remercie aussi tous les résidents du « château » (permanents et temporaires), les stagiaires, doctorants, post-docs, CDDs, anciens membres du laboratoire... et plus globalement toutes les personnes avec qui j'ai pu passer du temps durant ce stage, pour tous ces bon moments passés ensembles en vrai ou sur internet pendant le confinement.

Au final, je tenais à terminer ces remerciements avec ma famille ; tout d'abord mes parents grâce à qui j'ai pu faire des études, pour leur soutien moral et financier tout au long de ces années et enfin mon frère pour tous ses appels, ses conseils et pour avoir toujours les bons mots quelle que soit la situation.

# Sommaire

<b>I Introduction</b>	12
<b>II- Matériel et Méthodes</b>	5
II-A Site d'étude	
II-B Dispositif environnemental	
II-C Extraction d'ADN	
II-D Analyse de l'abondance par qPCR	
II-D-1 Préparation de la gamme	
II-D-2 Quantification des BALOs	
II-E Analyses statistiques	
<b>III- Résultats et discussion</b>	13
III-A Evolution des paramètres environnementaux	
III-B Dynamiques des populations bactériennes totales et des BALOs	
III-C Relations entre variables	
<b>V- Conclusions et perspectives</b>	26
<b>Bibliographie</b>	27



## Liste des abréviations

**ACP:** Analyse en composante principale

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**BALO:** *Bdellovibrio* and like organisms

**COD:** Carbone Organique Dissous

**DCA :** detrended analysis of variance

**EDTA:** Acide éthylènediaminetétraacétique

**HDNA :** High DNA content

**KCl:** Chlorure de Potassium

**LB:** Luria Bertoni

**LDNA :** Low DNA content

**pb:** paire de base

**PLP :** Particules associées aux procaryotes

**RDA :** Analyse de redondance

**TE:** Tampon Tris-EDTA

**Tris:** Trisaminométhane

**SDS:** dodécylsulfate de sodium

**VLP :** Particules associées aux virus



## Liste des figures

**Tableau 1** Souches /espèces types de chaque famille selon la classification des BALOs par Hahn et al. (2017) et Koval et al. (2015)

**Tableau 2** Quantité d'eau filtrée sur des filtres de 5 µm et de 0,2 µm en fonction des jours de prélèvement.

**Tableau 3** Liste des amorces oligonucléotidiques utilisées pour la quantification des différentes familles de BALOs par qPCR

**Figure 1** Le dispositif expérimental MESOLAC

**Figure 2** Evolution des conditions météorologiques

**Figure 2** Evolution des paramètres environnementaux mesurés au sein des mésocosmes

**Figure 4** Signatures cytométriques des bactéries totales et de leurs sous-groupes dénommés high et low DNA content

**Figure 5** Abondances bactériennes totales et proportion des cellules bactériennes à haut contenu en ADN

**Figure 6** Dynamique des populations de *Bdellovibrio*, *Peredibacter*, *Bacteriovorax* et des bactéries totales au sein des différents mésocosmes

**Figure 7** Analyses de redondance exprimant les relations entre les variables environnementales et les dynamiques des communautés planctoniques hétérotrophes ou les dynamiques des familles de BALOs



## I Introduction

Le changement global, en plus de la hausse des températures en cours et annoncée, se traduit par une augmentation du nombre et de la force des événements climatiques dits extrêmes, incluant tempêtes, fortes précipitations, inondations ou sécheresse (Field 2012). Les écosystèmes risquent d'être de plus en plus impactés par de tels événements et les lacs ne font pas exception. (Woolway and Merchant, 2019), par exemple, ont rapporté l'altération du régime thermique des lacs, ce qui pourrait avoir comme conséquences une réduction de la diversité planctonique et de la capacité de l'écosystème lacustre à retourner à son état initial à cause de sa perte de redondance fonctionnelle. Dès lors, étudier le fonctionnement des écosystèmes lacustres et leur capacité de résilience constituent un enjeu majeur pour mieux appréhender l'impact du réchauffement climatique sur l'état et l'évolution globale de ces derniers.

La réponse d'un écosystème lacustre à un événement extrême peut être étudiée de plusieurs façons et au travers de différents indicateurs physiques, chimiques ou biologiques. Si l'on s'intéresse plus spécifiquement à des questions écologiques, le plancton, qui, à la base des réseaux trophiques pélagiques, est constitué par de nombreux organismes auto- et hétérotrophes, joue un rôle crucial dans le fonctionnement global de l'écosystème. Cyanobactéries et microalgues, constitutives du phytoplancton, constituent une source de nourriture importante pour les maillons trophiques supérieurs, en particulier le zooplancton, et elles produisent également via la photosynthèse de la matière organique qui sera notamment consommée par les bactéries hétérotrophes. Ces dernières sont des acteurs centraux dans le cycle du carbone en transformant et en minéralisant la matière organique, mais aussi en tant que proies pour de nombreux organismes uni- ou multicellulaires. La structure, diversité, dynamique et distribution du bactérioplancton dépendent d'une multitude de facteurs abiotiques comme la température de l'eau, la luminosité, la concentration en nutriments, ... (Berdjeb *et al.*, 2011a) ainsi que de nombreux facteurs biotiques incluant le parasitisme (e.g la lyse virale) ou la prédation (Personnic *et al.*, 2009; Berdjeb *et al.*, 2011) Si la pression de prédation engendrée par les organismes flagellés, ciliés et du zooplancton métazoaire est assez bien connue, d'autres types d'interactions entre organismes ont été largement négligés. C'est le cas par exemple du rôle des bactéries prédatrices d'autres bactéries.

**Tableau 1** Souches /espèces types de chaque famille selon la classification des BALOs par (Hahn *et al.*, 2017) et (Koval *et al.*, 2015).

Classe	Famille	Genre	Souche / espèce type
<i>Oligoflexia</i>	<i>Bdellovibrionaceae</i>	<i>Bdellovibrio</i>	<i>B. bacteriovorus</i> HD100
			<i>B. exovorax</i> JSS
	<i>Peredibacteraceae</i>	<i>Peredibacter</i>	<i>P. starrii</i> A3.12
	<i>Bacteriovoraceae</i>	<i>Bacteriovorax</i>	<i>B. stolpii</i> UKi2
	<i>Pseudobacteriovoraceae</i>	<i>Pseudobacteriovorax</i>	<i>P. antillogorgiicola</i> RKEM611
	<i>Halobacteriovoraceae</i>	<i>Halobacteriovorax</i>	<i>H. marinus</i> SJ
<i>H. litoralis</i> JS5			
<i>α-proteobacteria</i>		<i>Micavibrio</i>	<i>M. admirandus</i>
			<i>M. aeruginosavorus</i>

Parmi les bactéries prédatrices, les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (en anglais les *Bdellovibrio And Like Organisms* ou BALOs) sont des bactéries Gram négatif flagellées de forme vibroïde de petite taille, variant entre 0,5 et 2,5  $\mu\text{m}$  en longueur et entre 0,2 et 1  $\mu\text{m}$  en largeur (Crossman *et al.*, 2013). Ce sont des prédateurs obligatoires avec un large spectre de proies possibles mais appartenant uniquement au groupe des bactéries Gram négatif. Les BALOs sont regroupés en deux clades polyphylétiques distincts : les Oligoflexia qui comprennent cinq familles constituées des *Bdellovibrionaceae*, *Bacteriovoracaceae*, *Pseudobacteriovoracaceae*, *Peridibacteraceae* et *Halobacteriovoracaceae*. Le second groupe est constitué des *Alpharotobacteria* et ne comprend qu'un seul genre : *Micavibrio*. Les différentes familles sont caractérisées par une ou deux souches ou espèces types (Tableau 1). La famille des *Bdellovibrionaceae* est représentée par *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 et *B. exovorus* JSS. Les *Peridibacteraceae* et les *Bacteriovoracaceae* ont chacun une souche type qui sont respectivement *Peridibacter starrii* A3.12 et *Bacteriovorax stolpii* UKi2. La famille des *Pseudobacteriovoracaceae* est, quant à elle, représenté par *Pseudobacteriovorax antillogorgiicola* RKEM611. La famille des *Halobacteriovoracaceae* possède deux espèces types *Halobacteriovorax marinus* SJ et *H. litoralis* JS5. Enfin le genre *Micavibrio* est représenté par deux espèces, *M. admirandus* et *M. aeruginosavorus*. Les BALOs ne sont donc pas regroupés selon des critères phylétiques mais selon leur mode de prédation qui est différent des autres bactéries prédatrices connues (Ezzedine and Jacquet, 2019). Deux cycles de vies différents ont pu être observés chez les BALOs. Avec le cycle de vie endobiotique ou périplasmique, le prédateur pénètre dans le périplasme de sa proie pour s'y développer. Inversement, avec le cycle épibiotique, les prédateurs s'ancrent à l'extérieur de leur proie et y restent sans pénétrer leur hôte. Ce second mode de prédation, moins courant que le cycle endobiotique, est connu pour le genre *Micavibrio*, et des espèces comme *Bdellovibrio exovorus* et *B. bacteriovorus* (Ezzedine and Jacquet, 2019).

Les BALOs sont ubiquistes et retrouvés dans tous les habitats, naturels ou artificiels, à la fois sous forme planctonique ou au sein de biofilms. Ils ont été décrits dans divers milieux terrestres (sol, rhizosphère) et aquatiques (eau douce, mer et océan) et dans une grande variété d'environnements notamment extrêmes (eaux antarctiques, sources géothermales, plancher océanique) (Sutton and Besant, 1994; Davidov and Jurkevitch, 2004), dans les eaux usées (Aguirre *et al.*, 2017) et chez les animaux (poumon humain, branchies de crabe) (Edouard, 2007). Au vu de leur caractère ubiquiste et de leur diversité, les BALOs pourraient avoir une incidence forte sur la dynamique et la structure des communautés bactériennes mais le rôle

écologique de ces bactéries prédatrices reste encore très mal connu du fait du manque d'étude à ce sujet (Koval *et al.*, 2015; Ezzedine and Jacquet, 2019; Paix and Ezzedine, 2019)

S'intéresser à la diversité, la distribution et la dynamique des BALOs peut être grandement facilitée en analysant ce groupe fonctionnel à des échelles de temps courtes et dans des conditions expérimentales ou naturelles relativement contrôlées. C'est typiquement ce qu'offrent les mésocosmes déployés *in situ* qui constituent un outil expérimental idéal, intermédiaire entre les microcosmes, généralement utilisés au laboratoire, et les suivis écologiques (McCallister *et al.*, 1961; Antia *et al.*, 1963; Egge and Heimdal, 1994) Ils ont fait la preuve par le passé de constituer un type d'instrumentation pertinent pour, par exemple, observer les modifications dans des communautés planctoniques complexes tout en contrôlant à minima les conditions environnementales tels que luminosité, concentrations en nutriments ou gaz dissous, brassage de l'eau, effet de prédateur(s), etc... (Mostajir *et al.*, 1999; Thingstad and Rassoulzadegan, 1999; Jacquet, 2002; Jacquet *et al.*, 2002; Havskum *et al.*, 2004). Ils peuvent permettre l'étude à méso-échelle d'événements rares ou non observables dans la nature sur les populations planctoniques qui pourront être extrapolées à l'environnement entier et qui peuvent être réalisés en réplicats pour permettre des analyses statistiques.

Les avantages offerts par les mésocosmes ont conduit à la mise en place du projet MESOLAC, dans lequel ce travail s'inscrit, et qui a eu pour but d'étudier comment un ou des événements climatiques extrêmes peuvent affecter la diversité fonctionnelle en association avec le cycle du carbone et les fonctions écologiques associées (la production primaire et secondaire, le réseau trophique...). Dans le cadre de MESOLAC, les mésocosmes ont constitué en des sacs remplis d'eau côtière du Léman (voir M&M ; Rasconi *et al.*, en préparation) qui est le plus grand lac naturel profond d'Europe occidentale et constitue donc un objet d'étude particulièrement intéressant dans le contexte de la réponse des systèmes lacustres aux changements globaux. En effet, ces derniers sont susceptibles de modifier négativement et durablement l'ensemble des services rendus par ce grand lac péri-alpin qui est notamment porteur et vecteur de biodiversité, fournisseur d'eau potable et d'énergie, terrain privilégié d'activités économiques importantes (pêche professionnelle, navigation, tourisme), lieu de diverses activités récréatives (baignade, plongée, nautisme), culture, contemplation et bien être, etc...

Les objectifs de ce travail ont été d'étudier l'impact de la simulation d'une forte précipitation et/ou inondation entraînant le lessivage des sols et apports de matière organique, le brassage accru de la colonne d'eau et la réduction de la luminosité ambiante sur l'abondance, la diversité et la dynamique de la communauté autochtone de BALOs du Léman. Les questions auxquelles nous avons tentées de répondre ont été les suivantes :



- Comment l'apport en carbone organique dissous, la diminution de la quantité de lumière et le brassage de la colonne d'eau impactent-ils l'abondance bactérienne totale et plus spécifiquement l'abondance des BALOs?
- Est-ce que ces perturbations simulant un événement estival extrême ont un effet similaire ou différent suivant les populations de BALOs?
- Quelle est la résilience des populations de BALOs après ce type d'événement ?

## II- Matériel et Méthodes

### II-A Site d'étude

Le Léman est le plus grand lac naturel profond d'Europe occidentale avec une surface de 560 km<sup>2</sup>, une longueur totale de 72 km, une largeur maximale de 13 km et un volume d'eau de 89 km<sup>3</sup>. Il forme la frontière naturelle entre la Suisse et la France et culmine à une altitude de 372 mètres. Son régime thermique est dit monomictique (l'eau du lac ne se mélange entièrement ou partiellement qu'une seule fois par an) et, depuis les années 2000, il peut être qualifié de lac mésotrophe avec une concentration hivernale moyenne en phosphore aux alentours de 15-20 µg.L<sup>-1</sup> (Jacquet *et al.*, 2014). Le bassin versant du lac correspond à une aire de 7419 km<sup>2</sup> et il est alimenté par 60 différents affluents dont le principal est le Rhône. Dit autrement, les apports au lac sont nombreux et peuvent être de toute sorte, plus particulièrement dans des conditions extrêmes.

### II-B Dispositif environnemental

Neufs mésocosmes flottants ont été placés dans le Léman aux abords de la Station INRAE d'Hydrobiologie Lacustre de Thonon-les-Bains pendant le mois de juillet 2019 (Figure 1). Les mésocosmes ont été attachés individuellement à des structures flottantes et des mouillages écologiques sur un fond d'environ 7 m. , mis en place par des plongeurs habilités (<https://youtu.be/t5-5YupyNxU>). Chaque mésocosme consistait en un sac en polypropylène renforcé d'environ 3 m de haut, 1 m de diamètre sur 2/3 de sa hauteur, finissant en cône et avec une contenance totale d'environ 3 m<sup>3</sup>. Au moment de l'expérience, ils ont été remplis passivement en quelques heures et laissés sans traitement pendant une période de 4 jours. Après cette période d'acclimatation, les mésocosmes ont été manipulés comme suit. Trois sacs n'ont

subi aucun apport ni brassage, seulement une diminution faible de la luminosité de 5% (au moyen d'un filtre LEE), constituant au final la condition « contrôle ». Une série de trois autres sacs a subi pendant trois semaines une réduction de la luminosité de 30%, un ajout régulier de carbone organique dissous (COD), augmentant la concentration de carbone de 0,64 mg / L tous les 4 jours environ, et un brassage manuel de 5 minutes deux fois par jour. Le second traitement, pour les 3 derniers sacs, a consisté à appliquer pendant 5 jours consécutifs, une réduction de la lumière de 85%, un brassage deux fois par jour de 15 min et une augmentation de 1,015 mg/L de COD tous les 2 jours (Tableau 2).

L'ajout de COD a été effectué à partir de tourbe achetée dans le commerce suivant le protocole suivant. 150 g de tourbe ont été placés dans 1,5 L d'eau et autoclavés 1 h à 120°C. Cette solution a été centrifugée pendant 15 min à 3 500 g, puis le surnageant filtré à travers un filtre de maille de 0,7 µm. Le filtrat a de nouveau été autoclavé pendant 1 h à 120°C. L'analyse chimique a été opérée sur cette solution, prête à l'emploi.

L'échantillonnage a eu lieu deux fois par semaine (à des intervalles de temps variant en fonction des conditions climatiques qui pouvaient rendre impossibles l'accès aux mésocosmes pour des raisons de sécurité en cas de forte houle), à deux profondeurs (0,5 et 2 m). L'eau issue des mésocosmes a été filtrée sur des filtres de porosité de 5 µm puis de 0,2 µm (les quantités d'eau filtrées ont pu varier en fonction des jours de prélèvement ; Tableau 2). Au cours de l'expérience, différents paramètres physico-chimiques ont été mesurés tels que la luminosité avec une RAMSES, la température, le pH, la conductivité, le taux d'oxygène ont été mesuré avec des sondes EXO. Pour la chlorophylle *a*, le taux de matière organique (particulaire et dissous) ainsi que les nutriments (P, N, Si) les concentrations ont été mesurées par analyses en laboratoire. Des mesures à haute fréquence de température, oxygène, conductivité et CO<sub>2</sub> ont également été obtenues au moyen de capteurs dédiés (Rasconi et al. Non-publié ; Figures 2 et 3). Des échantillons ont également été collectés pour dénombrer le virio-, bactério-, phyto- et zooplancton.



**Figure 1** Le dispositif expérimental MESOLAC.

## II-C Extraction d'ADN

Notre analyse a porté sur les échantillons prélevés dans chaque mésocosme, à six dates au cours du mois de juillet, pour la profondeur unique de 2 m et pour la fraction d'eau filtrée à 0,2 µm. Les extractions d'ADN ont été réalisées en utilisant un protocole maison optimisé au sein du laboratoire et utilisant la solution GenElute TM-LPA (Sigma-Aldrich). Tout d'abord, les filtres sont immergés dans 350 µL de tampon TE (TRIS 1M – pH 8, EDTA 0.5M – pH 8) et 450 µL de tampon de lyse (TRIS 1M – pH 8, EDTA 0.5M – pH 8, sucrose 0.7 M). Ils ont ensuite été agités au vortex horizontal avant de subir un choc thermique consistant à 15 minutes à -80°C puis 2 minutes à 55°C. Puis, 25 µL de SDS 20% et 20 µL de protéinase K (20 mg.mL<sup>-1</sup>) ont alors été ajoutés puis les lysats incubés 1 heure à 37°C, suivi de 20 minutes à 55°C avant d'être centrifugés à 4°C pendant 5 minutes à 13000 rpm. Le surnageant a été transféré dans un tube de 2 mL stérile, auquel a été ajouté 0,1 volume d'acétate de sodium (3M, pH 5,2 et 1,5 µL) et 1,5 µL de GenElute TM-LPA (25 µg.µL<sup>-1</sup>). Le tout a été laissé à température ambiante pendant 10 minutes. L'ADN a été précipité en ajoutant 1 volume d'isopropanol froid et centrifugé à 4°C pendant 10 minutes à 12 000 g. Le surnageant éliminé, le culot a été lavé deux fois successivement en ajoutant 400 µL d'éthanol 80% froid puis centrifugé à 4°C pendant 10 minutes à 12 000 g. Le surnageant retiré une nouvelle fois, le restant d'alcool a été évaporé au Speedvac pendant 30 minutes. Le culot a alors été resuspendu dans 30 µL de tampon TE et incubé 1 h à 37°C. La quantité et la qualité de l'ADN ont été mesurées au NanoDrop 1000. La concentration d'ADN de tous les échantillons a été normalisée à 25 ng.µL<sup>-1</sup> en diluant l'ADN extrait avec de l'eau de qualité biologie moléculaire. Enfin, l'ADN a été stocké à -20°C.

## II-D Analyse de l'abondance par qPCR

### II-D-1 Préparation de la gamme

Pour quantifier les différentes familles de BALOs, des amorces pour qPCR ont été créées, testées et optimisées au sein du laboratoire (Ezzedine *et al.*, en révision). Pour les *Bdellovibrio*, les amorces utilisées ont été celles issues de la littérature (Van Essche *et al.*, 2009) (Tableau 3). Aucune amorce conçue ciblant le genre *Micavibrio* n'a pu être utilisée à cause de leur manque de spécificité. De plus, la famille des *Halobacteriovoracaceae*, exclusivement marine, n'a pas été ciblée. Au final, notre étude a donc porté exclusivement sur les familles caractéristiques du groupe des Oligoflexia, présentes au sein du Léman, à savoir les *Bdellovibrionaceae*, *Bacteriovoracaceae* et *Peridibacteraceae*.

L'amplification de l'ADN a été réalisée selon le programme suivant : 15 min à 95°C suivi de 40 cycles composés de 45 s à 95°C, 60°C pendant 45 s et 72°C 45 s. Les produits de la qPCR ont ensuite été purifiés en utilisant le kit PCR DNA and gel Band Purification (Illustra™ GFX™) selon les instructions du fournisseur. Les amplicons ont été ensuite clonés à l'aide du kit TOPO TA Cloning (Invitrogen), selon les instructions du constructeur. Brièvement, la ligation a été réalisée en déposant 4 µL de produit PCR à 1 µL de Salt solution et 1 µL de TOPO Vector puis incubé pendant 20 min à température ambiante. La transformation a été effectuée par choc thermique dans des cellules *E. coli* 10 F compétentes: 2 µL de la solution de ligation ont été ajoutés à 50 µL de bactéries compétentes, puis les cellules ont été placées 10 min dans de la glace, suivi de 30 s à 42°C et enfin 3 min dans de la glace. Après cela, 250 µL de milieu SOC (Super Optimal broth with Catabolite repression) ont été ajoutés et les cultures incubées 1 heure à 37°C sous agitation. Les cultures transformées ont été inoculées sur boîtes de Pétri LB agar ampicilline X-Gal IPTG : 50 µL, 80 µL et 100 µL de culture ont été étalées et laissées incuber une nuit à 37°C. La vérification des clones a été opérée via une PCR sur colonie: la moitié de chaque colonie blanche a été récoltée (l'insert se situant dans le gène *lacZ*) et placée dans 20 µL d'eau MilliQ puis bouillie pendant 10 min à 95°C suivie de l'amplification par PCR en utilisant des amorces ciblant le gène *lacZ*: M13/pUC Forward 5'-CCCAGTCACGACGTTGTAAAACG-3' et M13/pUC Reverse 5'-AGCGGATAACAATTTTCACACAGG-3'. L'amplification a été effectuée selon le programme suivant : 94 °C pendant 10 min, 30 cycles constitués de 1 min à 94°C, 1 min à 55°C et 1 min 72°C, et pour terminer 10 min à 72°C. La deuxième moitié des colonies sélectionnées a été mise en culture à 37°C dans 1 mL de LB ampicilline liquide sous agitation pendant une nuit ; un volume équivalent de glycérol (100%) a été ajouté à la culture, qui a été ensuite conservée à -80°C. Sur l'un des clones, les plasmides portant le fragment d'intérêt ont été extraits avec le kit nucleospin plasmid (Macherey-Nagel™) selon les instructions du fournisseur. Les vecteurs ont ensuite été digérés pour en extraire le fragment d'intérêt : aux 17 µL de la solution de plasmides extraits ont été ajoutés 1 µL de l'enzyme de restriction BamHI 15 U/µL et 2 µL de tampon 10X (K, 200 mM Tris-HCl (pH 8.5), 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Dithiothreitol, 1,000 mM KCl (Takara Bio I)), le tout incubé 2 h à 37°C sous agitation puis 20 min à 56°C. La quantité d'ADN a été ensuite mesurée avec le kit Quant-iT PicoGreen dsDNA (Invitrogen) en suivant les instructions du fabricant. Une gamme a été réalisée avec l'ADN lambda (fourni avec le kit) en le diluant en cascade de 4 ng/µL à 0,01562 ng/µL.

Une moyenne des mesures des triplicats a été réalisée pour calculer le nombre de copies de gènes avec la formule suivante :

$$\text{Nombre de copies} = \text{Concentration d'ADN} \times 6.02 \times 10^{23} / (\text{taille du plasmide} \times 10^9 \times 660)$$

où  $6.02 \times 10^{23}$  correspond au nombre d'Avogadro et

660 correspond à la masse molaire d'une paire de base en  $\text{g.mol}^{-1}$ .

Après cela, une dilution en cascades au dixième a été réalisée jusqu'à ce que la quantité d'ADN soit de l'ordre de  $10^0$ . Les gammes issues de chaque paire d'amorces ont été ensuite testées par qPCR. Le programme est le suivant : 15 min à  $95^\circ\text{C}$  puis 40 cycles composés de 45 s à  $95^\circ\text{C}$  suivis de 45 s à  $60^\circ\text{C}$  et enfin 45 s à  $72^\circ\text{C}$  ; pour terminer la température augmente d' $1^\circ\text{C}$  toutes les 5 s allant de  $60^\circ\text{C}$  à  $95^\circ\text{C}$ . Chaque gamme a été validée en l'amplifiant en duplicat pour tester la répétabilité.

Au final, les gammes de qPCR ont eu pour *Bdellovibrio* une efficacité de 0,92, un  $R^2$  de 0,996 et un seuil placé à 0,02 ; pour *Peredibacter* une efficacité de 0,87, un  $R^2$  de 0,87 et un seuil de 0,015 ; et pour *Bacteriovorax*, une efficacité de 0,96, un  $R^2$  de 0,993 et un seuil de 0,02. Le Ct entre chaque point de gamme correspondait à peu près à 3,3 cycles, une valeur attendue.

#### II-D-1 Quantification des BALOs

La quantification des BALOs a été réalisée par qPCR basée sur la méthode SYBR Green avec les amorces citées précédemment. 1  $\mu\text{L}$  d'ADN extrait issu des mésocosmes jusqu'à la date de prélèvement du 22 juillet ou 1  $\mu\text{L}$  d'ADN de la gamme ont été amplifiés avec un mix réactionnel de 24  $\mu\text{L}$  comportant du SYBR Green Master Mix (concentration finale 1X), de BSA (concentration finale 0,3 mg/mL, des amorces sens et anti-sens (concentration finale 0,2  $\mu\text{M}$ ) et qsp. 25  $\mu\text{L}$  d'eau RNase-free. L'amplification a été réalisée avec le thermocycleur Rotor-gene Q (Qiagen) suivant le programme suivant : 15 min à  $95^\circ\text{C}$  puis 40 cycles composés de 45 s à  $95^\circ\text{C}$  suivis de 45 s à  $60^\circ\text{C}$  et enfin 45 s à  $72^\circ\text{C}$  ; pour terminer la température augmentait de  $1^\circ\text{C}$  toutes les 5 s allant de  $60^\circ\text{C}$  à  $95^\circ\text{C}$ . La réaction a été analysée avec le logiciel Rotor gene Q series software (Qiagen). Les concentrations en cellules par mL dans les mésocosmes à partir des résultats de la qPCR en nombre de copies par réaction (ou 1  $\mu\text{L}$  d'ADN utilisé) ont été obtenues avec la formule suivante:

$$\frac{\text{nombre de copies de gènes.mL} - 1 \times \text{le volume final d'ADN extrait}}{\text{facteur de dilution à } 25 \text{ ng. } \mu\text{L} - 1} = a$$

$$\frac{a}{\text{volume d'eau filtrée sur } 0,2 \mu\text{m}} = b$$

$$\frac{b}{\text{nombre de copies du gène codant pour le gène de l'ARN 16s}} = c \text{ (cellules/mL)}$$

Le choix du nombre de gènes par genre de BALO a été fait en se basant sur les génomes séquencés présents sur la plateforme NCBI. Ainsi, pour *Peredibacter*, le seul génome disponible est celui de *Peredibacter sp.* isolate SP55, et le nombre de copies du gène d'ARNr 16S est de 1. Pour *Bacteriovorax* et *Bdellovibrio*, le nombre de copies considéré a été celui des espèces de référence, à savoir *Bacteriovorax stolpii* Uki2 et *B. bacteriovorus HD100*, qui en possèdent 2.

#### II-D-2 Analyse des abondances bactériennes totales par cytométrie en flux

Un cytomètre en flux de paillasse FACSCalibur (BD BioSciences) a été utilisé pour obtenir les abondances cellulaires bactériennes totales. Lors de l'expérimentation MESOLAC, pour chaque jour de prélèvement et pour chaque mésocosme, 2 mL d'échantillons d'eau pris à 2 m de profondeur ont été fixés (avec du glutaraldéhyde à 0,5% de concentration finale), congelés dans de l'azote liquide et conservés à -22°C. Au moment de l'analyse, ils ont été dégelés pendant 1 minute à 37°C dans un bain marie puis 2,5 µL ont été ajoutés à 245 µL de tampon TE (pH=7,5 ; autoclavé et filtré à travers 0,02 µm) et 2,5 µL de SYBR Green I (dilué 10 000 fois). L'échantillon ainsi préparé a été chauffé 10 minutes à 75°C avant le passage au cytomètre. Les fichiers Listmode générés en cytométrie en flux ont été exportés et analysés avec le logiciel CYTOWN (Vaulot *et al.*, 1989). En plus des abondances bactériennes totales, l'analyse a permis également d'obtenir des informations sur les particules assimilables à des virus (Marie *et al.*, 1999) et à différents groupes bactériens dénommés « high ou low DNA content » susceptibles de discriminer respectivement les populations bactériennes les plus actives ou les moins productives/actives (Gasol and Del Giorgio, 2000).

**Tableau 2** Quantité d'eau filtrée sur des filtres de 5 µm et de 0,2 µm en fonction des jours de prélèvement.

Jour du prélèvement	Quantité d'eau filtrée sur un filtre de 5µm (mL)	Quantité d'eau filtrée sur un filtre de 0.2µm (mL)
04/07/2019	1200	200
08/07/2019	1000	200
10/07/2019	1500	250
16/07/2019	1500	250
18/07/2019	1500	250
22/07/2019	1500	250
25/07/2019	3000	350
30/07/2019	2000	250

**Tableau 3** liste des amorces oligonucléotidiques utilisées pour la quantification des différentes familles de BALOs par qPCR.

Noms	Séquences (5'-3')	Orientation	Cibles	Taille de l'amplicon (pb)
Bd347 F	GGAGGCAGCAGTAGGGAATA	Forward	<i>Bdellovibrio</i>	190
Bd549 R	GCTAGGATCCCTCGTCTTACC	Reverse		
Bx P5 F	CGGTCTGTAAAGCTCTGTTAATG T	Forward	<i>Bacteriovorax</i>	84
Bx P5 F	TGCCGMGTGAGTGAGGAAGG	Reverse		
Per P5 F	AAACTGCGTCTGAACTGCT	Forward	<i>Peredibacter</i>	91
Per P5 R	TGTTCCCTCACATCTCTACGGA	Reverse		



## II-E Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec la version 3.6.3 du logiciel R (R Core Team, 2018). Pour étudier les relations entre variables environnementales et les dynamiques des organismes étudiés, une DCA a été effectuée pour choisir le test à utiliser ; la longueur de l'axe 1 ayant été dans les deux cas inférieure à trois (Ramette, 2007) deux analyses de redondance (RDA) ont été réalisées à l'aide du package Vegan (Oksanen *et al.*, 2019). Ici le choix a été fait de séparer les données de cytométrie en flux et les données de qPCR pour éviter les biais méthodologiques.

Les graphiques ont également été réalisés via le logiciel R en utilisant le package ggplot2 (Wickham *et al.*, 2019).

## III- Résultats et discussion

Le brunissement des eaux douces ou marines est la conséquence du lessivage des bassins versants pendant les périodes de fortes précipitations qui peut entraîner le reversement d'une quantité importante de matières terrigènes et de carbone organique dissous terrigène (CODt) dans les eaux proches de la côte. Un effet marqué du transport des CODt est l'augmentation de la turbidité des eaux et par conséquent l'atténuation de la lumière dans la colonne d'eau qui peut diminuer la capacité photosynthétique des communautés phytoplanctoniques. Le CODt peut également engendrer un autre effet important, celui de favoriser les micro-organismes hétérotrophes procaryotes, typiquement les bactéries. Ces dernières assimilent en effet le COD mais ne sont pas impactés par l'atténuation de la lumière et peuvent donc bénéficier des apports de CODt. La prolifération et la respiration accrue de ces derniers peut entraîner une diminution du taux d'oxygène dissous dans l'eau avec des conséquences pour la vie aquatique. Puisque les CODt ont un impact sur les deux composantes majeures à la base des réseaux trophiques, ils peuvent entraîner un changement de la structure et du fonctionnement des réseaux microbiens, de l'état trophique et métabolique du système pélagique. Le changement du régime des précipitations, lié aux changements climatiques, peut entraîner une augmentation de crues dites éclairs et des apports terrigènes et ainsi le brunissement des eaux avec des modifications potentielles de la structure et du fonctionnement des réseaux microbiens. L'objectif de ce travail a été notamment d'étudier les réponses des micro-organismes bactériens totaux et d'un

groupe particulier, les BALOs, au brunissement des eaux (apports de COD et abattement de la lumière) associés à un brassage de la colonne d'eau plus ou moins marqué.

### III-A Evolution des paramètres environnementaux

L'expérience a été conduite au mois de juillet 2019. La météorologie locale a été fortement variable au cours de cette période avec des températures de l'air variant entre 14,5 et 33,3°C (moyennes horaires), des épisodes de précipitations qui ont été enregistrées les 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, 11<sup>ème</sup> et 17<sup>ème</sup> jours de l'expérience (allant de 0,5 à 8,5 mm) et des rafales de vents mesurées les 7, 8, 14, 24, 25 jours atteignant jusqu'à 23 m s<sup>-1</sup>. L'ensoleillement a été important au cours du mois de ce mois de juillet (Figure 2).

Dans les mésocosmes, la température de l'eau a varié de façon similaire dans toutes les conditions: le premier jour de l'expérience, la température était aux alentours de 20,9°C puis elle a diminué entre les jours 4 et 14 passant d'environ 23°C à 20,2°C pour atteindre le 18<sup>ème</sup> jour environ 22°C. La concentration en dioxygène a également suivi la même dynamique dans toutes les conditions: il y a eu une diminution de la concentration entre le premier et le quatrième jour, suivie d'une stabilisation le 12<sup>ème</sup> jour aux alentours de 9,5 mg.L<sup>-1</sup>; une diminution plus importante de la concentration en O<sub>2</sub> était observée dans la condition H passant d'environ 9,1 mg.L<sup>-1</sup> au début de l'expérience à environ 7,5 mg.L<sup>-1</sup> contre 8,4 mg.L<sup>-1</sup> pour les deux autres conditions (Figure 3). Pour la concentration en phosphore total, la condition H présentait également une dynamique différente, avec une forte augmentation jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour (passant d'environ 10 à 25 µg.L<sup>-1</sup>) alors que les deux autres conditions semblaient plutôt constantes (mise à part une augmentation au sein du mésocosme M3 le 12<sup>ème</sup> jour atteignant 18 µg.L<sup>-1</sup>). La concentration en azote totale a aussi suivi la même dynamique dans toutes les conditions augmentant au début de l'expérience de 550 à environ 600 µg.L<sup>-1</sup> au 4<sup>ème</sup> jour puis diminuant pour atteindre des concentrations sensiblement équivalentes aux concentrations initiales. Le pH variait de 7,9 à 8,6 et la concentration en chlorophylle *a* présente des dynamiques communes dans les trois conditions avec une diminution jusqu'au jour 4 (d'environ 1,2 µg.L<sup>-1</sup> à 0,7 µg.L<sup>-1</sup>) suivi d'une augmentation pour atteindre 2,1 µg.L<sup>-1</sup> le 12<sup>ème</sup> jour et diminuer jusqu'à la fin de l'expérience à environ 1,3 µg.L<sup>-1</sup>. L'importante barre d'erreur visible dans la condition H le 14<sup>ème</sup> jour est le résultat d'une dynamique différente dans le mésocosme H1. Contrairement aux autres mésocosmes qui diminuent après le 12<sup>ème</sup> jour pour atteindre 1,3 µg.L<sup>-1</sup>, la chlorophylle *a* mesurée dans le mésocosme H1 continue à augmenter pour atteindre 2,9 µg.L<sup>-1</sup>.

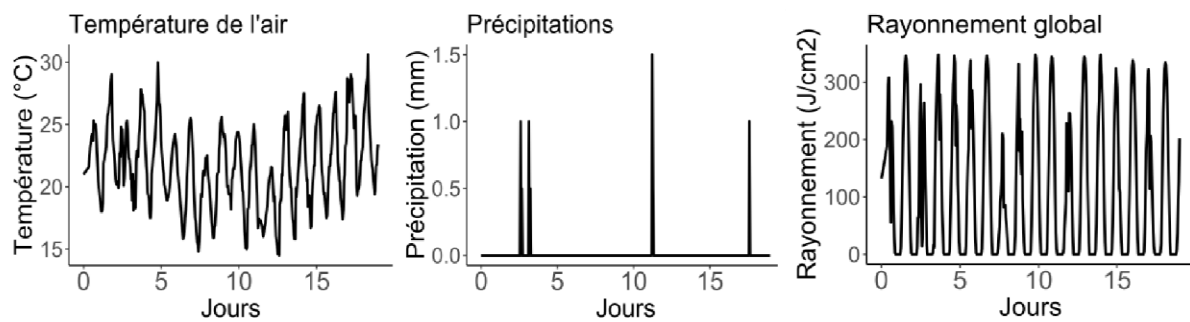
Les paramètres liés directement aux traitements présentaient logiquement des différences importantes entre conditions. La concentration initiale en carbone total de 1,30 mg.L<sup>-1</sup> au 1<sup>er</sup> jour était au 4<sup>ème</sup> jour de l'expérience de l'ordre de 1,42 mg.L<sup>-1</sup> au sein des contrôles, 1,72 mg.L<sup>-1</sup> dans les conditions M et de 4 mg.L<sup>-1</sup> dans les conditions H. La concentration de carbone diminuait ensuite dans la condition H pour atteindre 1,11 mg.L<sup>-1</sup> le 14<sup>ème</sup> jour avant de réaugmenter légèrement le 18<sup>ème</sup> jour. Dans la condition M, la concentration de carbone augmentait entre les jours 4 et 7, atteignant 1,90 mg.L<sup>-1</sup> avant de diminuer jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour (à 1,21 mg.L<sup>-1</sup>) et de réaugmenter légèrement ensuite. Dans les mésocosmes contrôles, la concentration de carbone diminuait jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour (aux alentours de 1,10 mg.L<sup>-1</sup>) puis augmentait légèrement à 1,19 mg.L<sup>-1</sup> le 18<sup>ème</sup> jour. Les mesures de la luminosité présentaient également d'importantes variations entre les différents traitements ces variations peuvent être expliquées par la sensibilité de la sonde qui a détecté des changements dans la luminosité ambiante qui ont pu être causés par des nuages par exemple.

### III-B Dynamiques des populations bactériennes totales et des BALOs

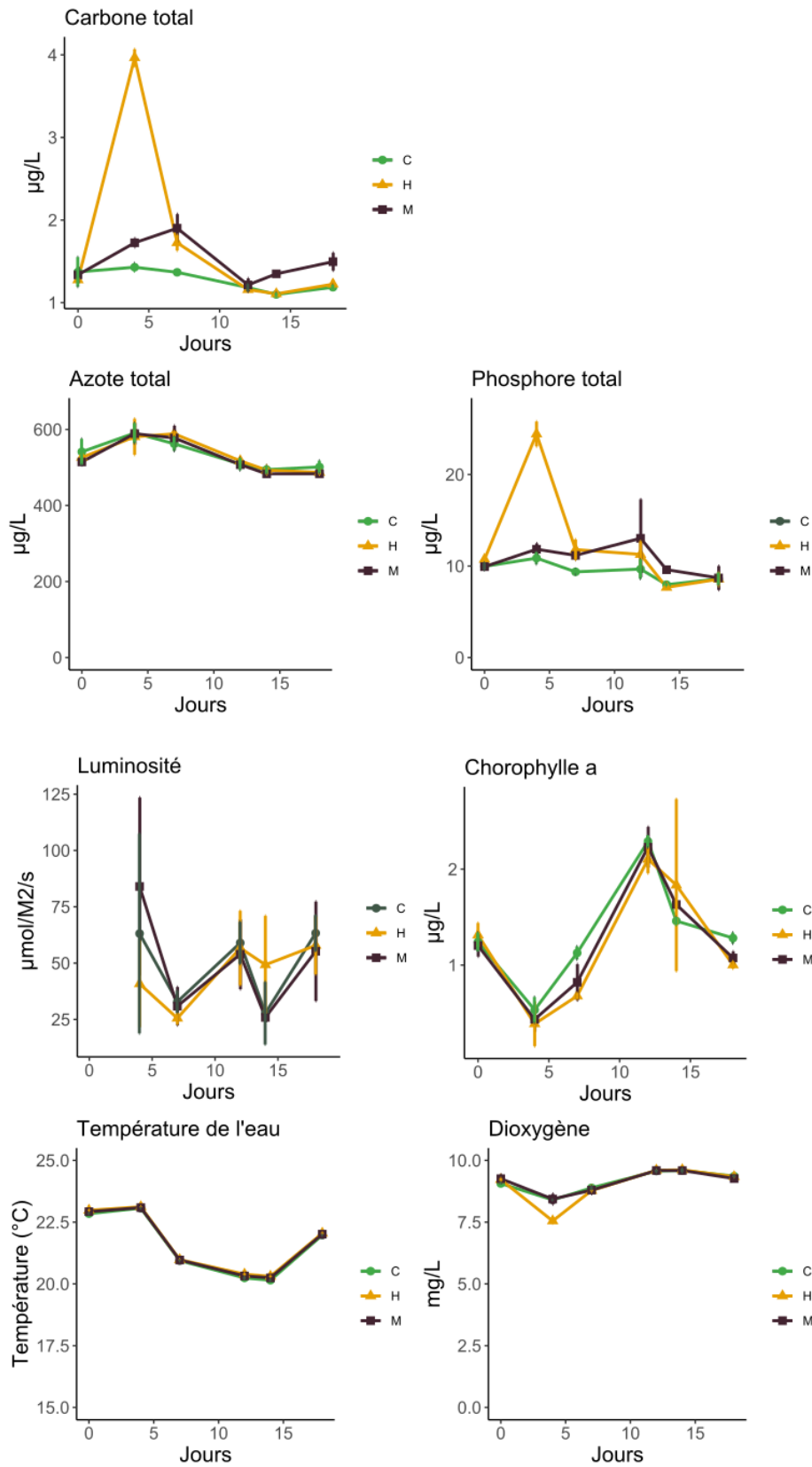
La quantification des communautés microbiennes par cytométrie en flux (figure 5) révélait que les particules associées aux procaryotes (PLP) de la condition contrôle ont une dynamique décroissante, avec une abondance de  $5,44 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> au début de l'expérience pour atteindre  $4,10 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> le 18<sup>e</sup> jour. Dans la condition H, l'abondance des PLPs diminuait de  $5,14 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> à  $2,64 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> le 4<sup>e</sup> jour, puis la concentration bactérienne augmentait à nouveau jusqu'au 11<sup>e</sup> jour pour atteindre  $4,47 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> puis rediminuait jusqu'à une concentration de  $2,63 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> au 18<sup>e</sup> jour. Dans les mésocosmes de la condition M, la concentration bactérienne augmentait entre les jours 0 et 4 passant de  $5,13$  à  $5,80 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> puis elle diminuait jusqu'au 18<sup>e</sup> jour ( $4,26 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>).

Dans les deux sous-groupes constituant les PLPs: high et low DNA content (abrégés respectivement HDNA et LDNA), les dynamiques observées étaient différentes. Chez les HDNAs, les abondances bactériennes des mésocosmes des conditions contrôle et H suivaient la même cinétique, à savoir, une diminution constante entre les jours 1 et 18. Elles diminuaient respectivement de  $3,80 \times 10^6$  à  $1,65 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> et de  $3,67 \times 10^6$  à  $1,10 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>. La dynamique bactérienne au sein de la condition M différait par une augmentation jusqu'au jour 4 (de  $3,65 \times 10^6$  à  $4,15 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>) suivie d'une diminution jusqu'à  $1,18 \times 10^6$

cellules.mL<sup>-1</sup> au jour 18. Chez les LDNAs aussi, les dynamiques bactériennes entre les conditions contrôle et H étaient proches, débutant par une diminution entre les jours 0 et 4 (de 1,63 x 10<sup>6</sup> à 1,25 x 10<sup>6</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> pour la condition contrôle et de 1,47 x 10<sup>6</sup> à 8,99 x 10<sup>5</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> pour la condition H).



**Figure 2** Evolution des conditions météorologiques au cours de l'expérimentation.



**Figure 3** Evolution des paramètres environnementaux principaux au sein des mésocosmes.

Les dynamiques de ces deux conditions se différencient pendant l'augmentation suivant le jour 4: pour la condition contrôle, l'augmentation se poursuivait jusqu'au jour 14 avec une abondance bactérienne de  $3,09 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> alors que pour la condition H l'augmentation se terminait le 11e jour atteignant  $2,84$  cellules.mL<sup>-1</sup>. Pour les deux conditions s'en suivait une diminution jusqu'au 18e jour où les abondances bactériennes étaient de  $1,53 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> pour la condition H et de  $2,46 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> dans le contrôle. Dans la condition M, les LDNAs montraient une augmentation entre les jours 0 et 11 passant de  $1,57 \times 10^6$  à  $3,04 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> puis l'abondance bactérienne diminuait jusqu'à  $2,08 \times 10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup> le 18<sup>ème</sup> jour.

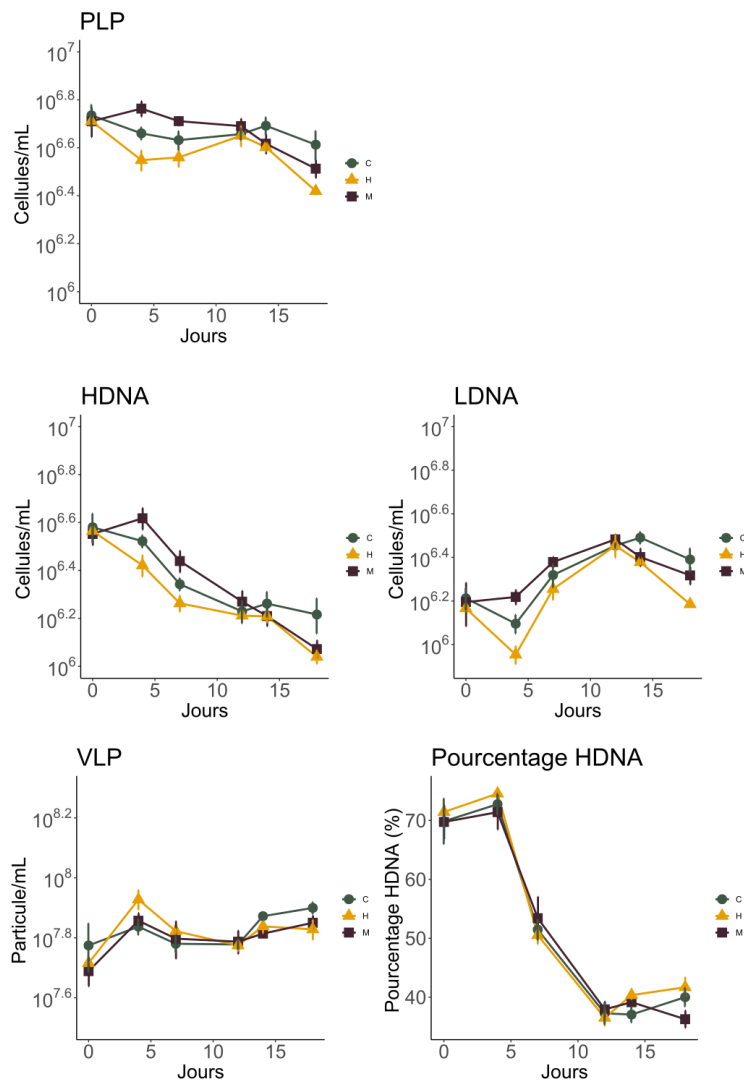
Les abondances des particules associées aux virus (VLP) (figure5) ont également été mesurées en cytométrie en flux. Dans la condition contrôle, les particules virales augmentaient entre les deux premières dates de  $5,95 \times 10^7$  à  $6,87 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup>, avant de diminuer jusqu'au 11e jour ( $5,99 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup>) et de réaugmenter jusqu'au jour 18 pour atteindre  $7,94 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup>. Au sein de la condition H, les VLPs augmentaient jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour de  $5,19 \times 10^7$  à  $8,47 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup> puis diminuaient à  $5,95 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup> le 11<sup>ème</sup> jour, augmentait à nouveau pour atteindre  $6,89 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup> le jour 14, puis décroissaient ensuite jusqu'à  $6,73 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup> le 18<sup>ème</sup> jour. Pour la condition M, la concentration virale augmentait jusqu'au jour 4 (de  $4,88 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup> le jour 0 à  $7,20 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup>) puis diminuait jusqu'à  $6,12$  le 11<sup>ème</sup> jour pour croître à nouveau jusqu'au 18<sup>ème</sup> jour atteignant  $7,08 \times 10^7$  particules.mL<sup>-1</sup>.

Les différentes dynamiques des particules associées aux procaryotes et au virus obtenus par cytométrie en flux ne présentent pas de différence significative entre les trois traitements. Alors que les effets des traitements sont visibles sur les variables physico-chimiques étudiés comme une augmentation des concentrations de carbone total, en phosphore particulaire et en phosphore total dans les traitements H et M. Les particules associées aux procaryotes sont composées en grande majorité de bactéries hétérotrophes (Jacquet communication personnelle), et il était attendu que les concentrations des bactéries des mésocosmes ayant reçu les traitements soient supérieures aux mésocosmes contrôles à cause de l'apport en matière organique. L'une des raisons qui pourrait expliquer l'absence de réponse du bactérioplancton serait la solution à base tourbe du commerce utilisée comme source de carbone organique. Le COD de cette solution n'était peut-être pas ou peu assimilable par les bactéries hétérotrophes, et donc trop constitué de matière réfractaire, résultant donc en un impact très faible sur les abondances de la communauté bactérienne (Kankaala *et al.*, 2010). Il est aussi possible que d'autres éléments aient été limitants pour la croissance bactérienne en cette période estivale où

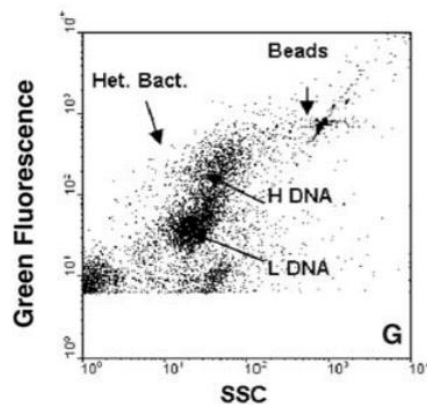
les eaux de surface peuvent effectivement être très appauvries en Phosphore typiquement (Rapport CIPEL, 2019).

Les dynamiques des particules associées aux procaryotes ont révélé dans toutes les conditions une légère diminution au cours de l'expérience. Si l'on s'intéresse au rapport entre les deux sous-groupes des PLP exprimé en %HDNA, la proportion de HDNA-PLP a diminué d'environ 70% le jour 4 à environ 40% le 12<sup>ème</sup> jour. Cette inversion dans la dominance des deux sous-groupes constituant les PLPs a surtout été le résultat de la diminution des HDNAs, c'est-à-dire le sous-groupe des PLPs caractérisé par une quantité d'ADN plus importante et défini, bien que cela ait été contesté (Scharek and Latasa, 2007), comme la fraction la plus active du bactérioplancton (Gasol et Del Giorgio, 2000). La différence visible en cytométrie en flux entre les sous-groupes des PLPs est visible dans la Figure 4. L'hypothèse la plus probable pour expliquer la diminution HDNA-PLP pourrait être une action combinée des différentes pressions de prédation qui s'exercent sur ce compartiment par les flagellés, les ciliés, les bactériophages, et peut être aussi dans une moindre mesure les BALOs et d'autres bactéries prédatrices.

Les abondances de trois familles de BALOs (figure 6) ont été suivies dans les différents mésocosmes à intervalle régulier en les mesurant par qPCR. La dynamique des abondances des *Peredibacteraceae* au sein du traitement C dans les trois mésocosmes montre une diminution entre le jour 0 et le jour 12 passant d'environ  $4,73 \times 10^3$  cellules.mL<sup>-1</sup> à environ 26 cellules.mL<sup>-1</sup> avant de réaugmenter jusqu'au jour 18 pour atteindre environ  $2,59 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup>. Dans la condition H, la famille des *Peredibacteraceae* présente une décroissance constante tout au long de l'expérience avec une concentration bactérienne passant de  $9,61 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup> (le mésocosme H2 montre une concentration inférieure aux deux autres avec une abondance en *Peredibacteraceae* de  $9,44 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup>) à la fin de l'expérience d'environ 82 cellules.mL<sup>-1</sup>. Dans le traitement M, les abondances des *Peredibacteraceae* augmentent jusqu'au jour 4 passant de  $2,46 \times 10^3$  et  $8,24 \times 10^3$  cellules.mL<sup>-1</sup> ; il y a ensuite une diminution jusqu'au jour 14 où l'on mesure une abondance d'environ 52 cellules.mL<sup>-1</sup> qui est suivie d'une augmentation jusqu'au jour 18 pour atteindre environ  $1,88 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup>. La famille des *Bacteriovoracaceae* présente des dynamiques similaires dans tous les traitements. Le premier jour de l'expérience, les abondances dans les différents traitements sont de  $1,44 \times 10^3$  cellules.mL<sup>-1</sup> dans les mésocosmes du traitement C, de  $4,19 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup> pour le traitement H et de  $10,59 \times 10^2$  cellules.mL<sup>-1</sup>.



**Figure 5** Abondances virales (VLP) et bactériennes totales (PLP), des cellules à fort ou faible contenu en ADN (LDNA et HDNA) des proportions en HDNA.



**Figure 4** Signatures cytométriques des bactéries totales et de leurs sous-groupes dénommés high et low DNA content.

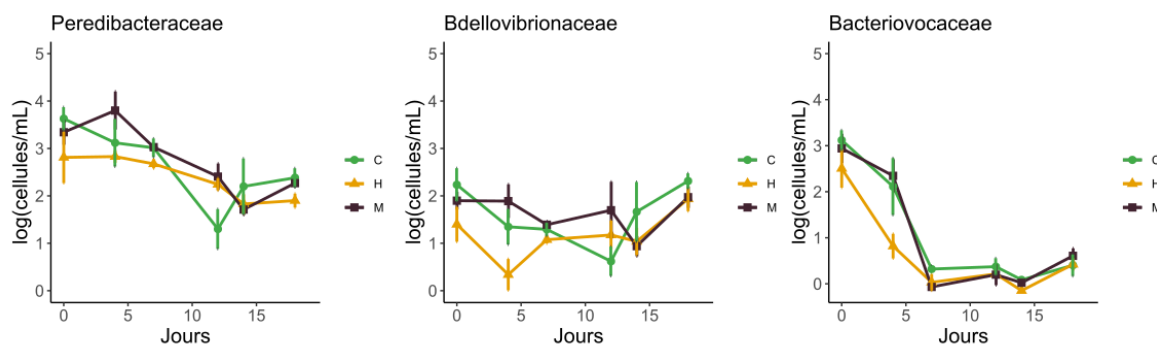


La population de *Bacteriovoracaceae* s'effondre ensuite jusqu'à atteindre des concentrations mesurées inférieures à 10 cellules.mL<sup>-1</sup> le 6<sup>ème</sup> jour. La famille des *Bdellovibrionacaceae* au sein des mésocosmes contrôles présente une diminution entre les jours 0 et 12, passant d'environ 2,13 x 10<sup>2</sup> cellules.mL<sup>-1</sup> à environ 5 cellules / mL avant de réaugmenter jusqu'au jour 18 pour atteindre environ 2,14 x 10<sup>2</sup> cellules.mL<sup>-1</sup>. Dans les mésocosmes de la condition H, les *Bdellovibrionacaceae* diminuent dans un premier temps jusqu'au jour 4 (de 30 cellules.mL<sup>-1</sup> à environ 2 cellules.mL<sup>-1</sup>), puis les concentrations réaugmentent pour atteindre environ 95 cellules.mL<sup>-1</sup> à la fin de l'expérience. Dans le traitement M, les abondances des *Bdellovibrionacaceae* présente une forte variabilité les jours 4 et 12 ne permettant pas de définir de tendance claire. Entre les jours 0 et 14, on peut toutefois observer une diminution entre ces deux dates, la concentration bactérienne passant de 83 cellules.mL<sup>-1</sup> à 9 cellules.mL<sup>-1</sup> puis une augmentation jusqu'au jour 18 avec une concentration de 1,03 x 10<sup>2</sup> cellules.mL<sup>-1</sup>.

Une importante variabilité est observée entre les mésocosmes d'une même condition, si bien qu'il est difficile de conclure avec certitude sur les effets des différents traitements sur les dynamiques des différentes familles de BALOs étudiées. Toutes les qPCR ont été réalisées deux fois pour valider les résultats, et ce pour toutes les familles de BALOs. Les mêmes dynamiques ont été observées dans les deux qPCR, permettant d'exclure que la variabilité observée soit lié à des problèmes de manipulation. Il est toutefois possible que des inhibiteurs présents dans les échantillons lors des réactions de polymérisation en chaîne (typiquement des composés phénoliques) soient la cause de cette variabilité (Schrader *et al.*, 2012). En effet le protocole d'extraction utilisé est optimisé pour extraire la plus grande quantité d'ADN possible, et non pour limiter la concentration des inhibiteurs dans les échantillons. Une autre source potentielle d'inhibiteurs serait des acides humiques présents dans la tourbe utilisée pour l'apport de COD, cette source d'inhibiteurs pourrait expliquer en partie la variabilité observée dans les traitements H et M mais pas dans les contrôles qui n'ont pas reçu d'apport de cette solution. Au moment de l'écriture de ce rapport, cette hypothèse n'a pas pu être vérifiée à cause des mesures de confinements. Il est prévu de le tester en diluant en série les échantillons puis en mesurant par qPCR les concentrations de copies de gènes.mL<sup>-1</sup> dans les échantillons non dilués et dans les dilutions. La présence d'inhibiteurs sera confirmée si les dilutions ont des concentrations supérieures à l'échantillon non dilué car cela montrera que la dilution des inhibiteurs permet une meilleure réaction de polymérisation en chaîne.

Les mesures des abondances de BALO ont révélé tout au long de l'étude une plus forte abondance des *Peredibacteraceae*, par rapport aux *Bdellovibrionacaceae* et aux *Bacteriovoracaceae*, un résultat qui corrobore une étude précédente dans les grands lacs péri-

alpins dont le Léman (Paix and Ezzedine, 2019). Si les différentes familles de BALOs ont présenté des réponses légèrement différentes aux traitements appliqués, aucune modification importante n'a toutefois été enregistrée dans les dynamiques observées, les tendances générales étant plutôt similaires. Les différences observées étaient des concentrations plus faibles dans les mésocosmes contrôles au 7<sup>ème</sup> jour pour les *Peredibacteraceae* ou encore le 4<sup>ème</sup> jour chez les *Bdellovibrionaceae* et les *Bacteriovoraceae* dans le traitement H. Cependant, comme dit précédemment, la variabilité des résultats ne permettait pas de confirmer si ces différences sont dues à la présence d'inhibiteurs lors des PCR ou si elles sont représentatives de la réalité écologique.



**Figure 6** Dynamique des populations de *Bdellovibrionaceae*, *Peredibacteraceae*, *Bacteriovoraceae* aux sein des différents mésocosmes.

## II-C Relations entre variables

Afin d'étudier les relations entre les variables environnementales et les abondances bactériennes, des Analyses de redondance (RDA) ont été effectuées afin de caractériser l'impact potentiel d'une variable environnementale qui pourrait expliquer les dynamiques des populations bactériennes étudiées. Deux RDAs distinctes ont été réalisés en séparant les données issues de qPCR et les données obtenues en cytométrie en flux, les deux méthodes se basant sur des approches différentes pour quantifier les concentrations cellulaires. En effet, la qPCR quantifie des copies de gène par mL après extraction de l'ADN total alors que la cytométrie en flux mesure des particules ou cellules par mL par fluorescence, et pour les procaryotes on sait que les comptages correspondent à un mélange de bactéries et d'archées.

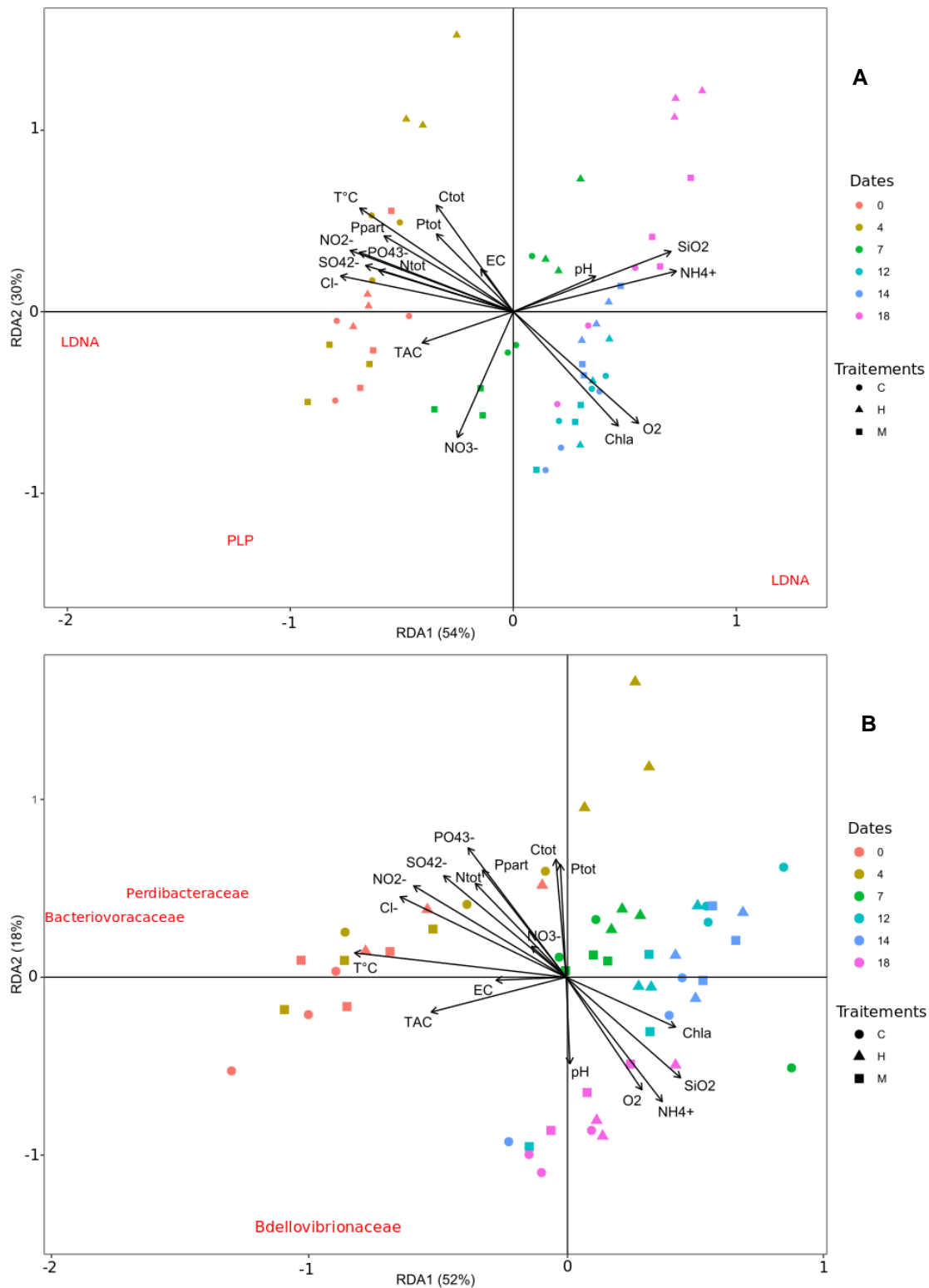
La RDA analysant les mesures des abondances des PLPs obtenues par cytométrie en flux explique 84% de la variance (figure 8). Le graphique montre que les dynamiques observées chez les PLPs ne sont liées à aucune des variables environnementales mesurées, suggérant l'absence de réponse significative aux traitements. Le groupe des HDNAs ne présente pas non

plus de lien privilégié avec les variables environnementales contrairement aux groupes de LDNAs dont les dynamiques semblent présenter des similarités avec celles de la chlorophylle *a*. Les différents points représentant les conditions pour chaque date sont séparés en trois périodes de 0 à 4 jours, le 7<sup>ème</sup> jour seul et la dernière période du 12<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> jour. Dans ces trois regroupements de points, les trois conditions sont regroupées suggérant qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements. Les résultats de cette RDA confirment les hypothèses émises avec les courbes des dynamiques, à savoir que les traitements ne semblent pas avoir impacté les procaryotes hétérotrophes.

La RDA analysant les relations entre les familles de BALOs et les variables environnementales explique 70% de la variance. La famille des *Bdellovibrionaceae*, contrairement aux deux autres familles de BALOs, ne présente aucun lien avec les variables environnementales. Les *Peredibacteraceae* présentaient des relations avec la température et la concentration en chlore, et les *Bacteriovoraceae* également avec la température. De la même manière que pour les données de cytométrie en flux, la distribution des points représentant les conditions pour chaque date forme trois regroupements par périodes de 0 à 4 jours, le 7<sup>ème</sup> jour seul (un point correspondant à un mésocosme contrôle est à l'écart de ce groupe) et la dernière période du 12<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> jour sans séparation par condition, suggérant que si les traitements ont influencé les BALOs, cette influence était faible.

Les dynamiques observées dans les populations de BALOs ne peuvent donc pas être expliquées avec les seuls paramètres utilisés dans cette étude. La littérature nous rappelle que les facteurs qui influent sur ce groupe bactérien sont la salinité, la température et les proies (Kelley *et al.*, 1997). L'étude étant réalisée en eau douce la salinité n'est donc pas un facteur pertinent ici. La température semble avoir un effet sur les dynamiques des *Peredibacteraceae* et des *Bacteriovoraceae*, cette effet reste cependant à nuancer car la variation de température de l'eau n'étant que d'environ 2,5°C elle ne permet d'expliquer seule l'effondrement de la population de *Bacteriovoraceae* ni la dynamique des *Peredibacteraceae*, de plus les *Bdellovibrionaceae* ne semblent pas être impactés par la température. Pour les *Peredibacteraceae*, aucune corrélation positive n'ayant été exposée dans la littérature et le chlore étant connu pour être un agent antibactérien (Maris, 1995), il semble donc que la similarité entre les tendances soit fortuite mais il serait tout de même nécessaire de le vérifier en réalisant une expérience en cultivant un BALO et sa proie avec différentes concentrations de chlore pour voir si l'augmentation de la concentration en chlore induit une augmentation de la concentration du BALO. Des variations au niveau de la pression de prédation et des proies constituent donc les hypothèses les plus probables pour expliquer les dynamiques des BALOs.

Les interactions biotiques peuvent être importantes, typiquement la compétition pour les mêmes proies et l'action d'autres prédateurs comme des bactéries prédatrices, des flagellés, des ciliés ou encore des phages. Effectivement, il a pu être montré par le passé que l'efficacité de la prédation des BALOs diminue en présence d'autres bactéries prédatrices (Van Essche *et al.*, 2011) ou encore que les BALOs peuvent être la cible des flagellés, des ciliés (Johnke *et al.*, 2017) et des bactériophages (Hashimoto *et al.*, 1970).



**Figure 7** Analyses de redondance exprimant les relations entre les variables environnementales et les dynamiques des communautés planctoniques hétérotrophes (A) ou les dynamiques des familles de BALOs (B)

## V- Conclusions et perspectives

Le projet MESOLAC, dans lequel s'inscrit ce travail, a eu pour but d'étudier l'impact d'un événement extrême estival sur les communautés planctoniques du Léman. L'expérience, rendue possible par le déploiement de 9 mésocosmes dans le lac, a consisté à simuler un épisode de fortes précipitations engendrant un apport significatif de matière organique dissoute terrigène, la brunification des eaux (par exemple l'abatement de la lumière) et un brassage important des eaux de surface. Pendant 3 semaines au mois de juillet 2019, deux types de traitements simulant des impact d'intensité différente ont été appliqués et la dynamique des bactéries planctoniques, en particulier celles de bactéries prédatrices obligatoires d'autres bactéries ont été suivies.

Nos résultats ont révélé un impact limité des différents traitements sur l'abondance des bactéries suggérant en premier lieu que la source de carbone utilisée pour l'enrichissement n'était pas ou peu bio-disponible, et/ou fortement contrainte par la limitation en ressource inorganique comme le phosphore. Les dynamiques très différentes entre les HDNA et LDNA, indépendamment des traitements, suggéraient des changements dans la structure de la communauté bactérienne totale, sûrement à mettre en relation avec une pression de prédation plus sélective sur les HDNAs. Pour approfondir cette étude sur les communautés procaryotes hétérotrophes, il serait intéressant d'étudier l'activité et la diversité des différents sous-groupes bactériens par séquençage massif, en utilisant du metabarcoding par exemple. Les dynamiques d'abondances des trois familles de BALOs étudiées (*Bacteriovoraceae*, *Peredibacteraceae* et *Bdellovibrionaceae*) ont été faiblement impactées par les différents traitements, révélant la complexité d'étudier ce groupe de bactéries avec un nombre de facteurs analysés limité, et sans s'intéresser plus spécifiquement à la quantité et qualité des proies, et tous les types de prédation pouvant aussi s'exercer sur ce groupe fonctionnel.

L'écologie des BALOs en milieu naturel, et plus particulièrement au sein des eaux douces comme les grands lacs, reste encore très mal connue (Ezzedine et Jacquet, 2019). Cette étude a tenté de combler une partie des lacunes de connaissances sur ce groupe bactérien.

## Bibliographie

- Aguirre, M., Abad, D., Albaina, A., Cralle, L., Goñi-Urriza, M.S., Estonba, A., and Zarraonaindia, I. (2017) Unraveling the environmental and anthropogenic drivers of bacterial community changes in the Estuary of Bilbao and its tributaries. *PLoS One* **12**: 1–22.
- Antia, N.J., McAllister, C.D., Parsons, T.R., Stephens, K., and Strickland, J.D.H. (1963) Further Measurements of Primary Production Using a Large-Volume Plastic Sphere. *Limnol Oceanogr* **8**: 166–183.
- Berdjeb, L., Ghiglione, J.F., and Jacquet, S. (2011a) Bottom-up versus top-down control of hypo-and epilimnion free-living bacterial community structures in two neighboring freshwater lakes. *Appl Environ Microbiol* **77**: 3591–3599.
- Berdjeb, L., Pollet, T., Domaizon, I., and Jacquet, S. (2011b) Effect of grazers and viruses on bacterial community structure and production in two contrasting trophic lakes. *BMC Microbiol* **11**: 88  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/11/88>.
- Conseil Scientifique de la commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution (2019) Rapport sur les études et recherches entreprises dans le bassin lemanique - Campagne 2018. *J Chem Inf Model* **53**: 303.
- Crossman, L.C., Chen, H., Cerdeño-Tárraga, A.M., Brooks, K., Quail, M.A., Pineiro, S.A., *et al.* (2013) A small predatory core genome in the divergent marine *Bacteriovorax marinus* SJ and the terrestrial *Bdellovibrio bacteriovorus*. *ISME J* **7**: 148–160.
- Davidov, Y., and Jurkevitch, E. (2004) Diversity and evolution of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs), reclassification of *Bacteriovorax starrii* as *Peredibacter starrii* gen. nov., comb. nov., and description of the *Bacteriovorax*-*Peredibacter* clade as *Bacteriovoracaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **54**: 1439–1452.
- Edouard, J. (2007) Predatory Behaviors in Bacteria—Diversity and Transitions. *Microbe* **2**: 67–73  
<https://pdfs.semanticscholar.org/2629/96bb6113ffe2650523e1aadbdd1836a273e3.pdf>.
- EGGE, J.K., and Heimdal, B.R. (1994) Blooms of phytoplankton including *emiliania huxleyi* (haptophyta). Effects of nutrient supply in different N: P Ratios. *Sarsia* **79**: 333–348.
- Essche, M. Van, Quirynen, M., Sliepen, I., Loozen, G., Boon, N., Eldere, J. Van, and Teughels, W. (2011) Killing of anaerobic pathogens by predatory bacteria. *Mol Oral Microbiol* **26**: 52–61.
- Essche, M. Van, Sliepen, I., Loozen, G., Eldere, J. Van, Quirynen, M., Davidov, Y., *et al.* (2009) Development and performance of a quantitative PCR for the enumeration of *Bdellovibrionaceae*. *Environ Microbiol Rep* **1**: 228–233.
- Ezzedine, J.A., and Jacquet, S. (2019) Bactéries prédatrices : zoom sur les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs). 1–25.
- Gasol, J.M., and Giorgio, P.A. Del (2000) Using flow cytometry for counting natural planktonic bacteria and understanding the structure of planktonic bacterial communities. *Sci Mar* **64**: 197–224.
- Hahn, M.W., Schmidt, J., Koll, U., Rohde, M., Verburg, S., Pitt, A., *et al.* (2017) *Silvanigrella aquatica* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, description of *silvanigrellaceae* fam. nov. and *silvanigrellales* ord. nov., reclassification of the order *bdellovibrionales* in the class *oligoflexia*, reclassification of the families *bacteriovoracaceae* and *halobacteriovoracaceae* in the new order *bacteriovoracales* ord. nov., and reclassification of the family *pseudobacteriovoracaceae* in the order *oligoflexiales*. *Int J Syst Evol Microbiol* **67**: 2555–2568.

- Hashimoto, T., Diedrich, D.L., and Conti, S.F. (1970) Isolation of a Bacteriophage for *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Virol* **5**: 97–98.
- Havskum, H., Schlüter, L., Scharek, R., Berdalet, E., and Jacquet, S. (2004) Routine quantification of phytoplankton groups - Microscopy or pigment analyses? *Mar Ecol Prog Ser* **273**: 31–42.
- Jacquet, S. (2002) Short-timescale variability of picophytoplankton abundance and cellular parameters in surface waters of the Alboran Sea (western Mediterranean). *J Plankton Res* **24**: 635–651.
- Jacquet, S., Domaizon, I., and Anneville, O. (2014) The need for ecological monitoring of freshwaters in a changing world: A case study of Lakes Annecy, Bourget, and Geneva. *Environ Monit Assess* **186**: 3455–3476.
- Jacquet, S., Havskum, H., Thingstad, T.F., and Vaulot, D. (2002) Effects of inorganic and organic nutrient addition on a coastal microbial community (Isefjord, Denmark). *Mar Ecol Prog Ser* **228**: 3–14.
- Johnke, J., Boenigk, J., Harms, H., and Chatzinotas, A. (2017) Killing the killer: Predation between protists and predatory bacteria. *FEMS Microbiol Lett* **364**.
- Kankaala, P., Peura, S., Nykänen, H., Sonninen, E., Taipale, S., Tiirola, M., and Jones, R.I. (2010) Impacts of added dissolved organic carbon on boreal freshwater pelagic metabolism and food webs in mesocosm experiments. *Fundam Appl Limnol* **177**: 161–176.
- Kelley, J.I., Turng, B.F., Williams, H.N., and Baer, M.L. (1997) Effects of temperature, salinity, and substrate on the colonization of surfaces in situ by aquatic bdellovibrios. *Appl Environ Microbiol* **63**: 84–90.
- Koval, S.F., Williams, H.N., and Colin Stine, O. (2015) Reclassification of *bacteriovorax marinus* as *Halobacteriovorax marinus* gen. Nov., comb. nov. and *bacteriovorax litoralis* as *halobacteriovorax litoralis* comb. nov.; description of *halobacteriovoraceae* fam. nov. in the class Deltaproteobacteria. *Int J Syst Evol Microbiol* **65**: 593–597.
- Marie, D., Brussaard, C.P.D., Thyraug, R., Bratbak, G., and Vaulot, D. (1999) Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. *Appl Environ Microbiol* **65**: 45–52.
- Maris, P. (1995) Modes of action of disinfectants. *Rev Sci Tech* **14**: 47–55.
- Mcallister, C.D., Parsons, T.R., Stephens, K., and Strickland, J.D.H. (1961) OCEANOGRAPHY. .
- Mostajir, B., Demers, S., Mora, S. De, Belzile, C., Chanut, J.P., Gosselin, M., *et al.* (1999) Experimental test of the effect of ultraviolet-B radiation in a planktonic community. *Limnol Oceanogr* **44**: 586–596.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., *et al.* (2019) vegan: Community Ecology Package. <https://cran.r-project.org/package=vegan>.
- Paix, B., and Ezzedine, J.A. (2019) crosssm Diversity , Dynamics , and Distribution of *Bdellovibrio* and Like. **85**: 8–12.
- Personnic, S., Domaizon, I., Sime-Ngando, T., and Jacquet, S. (2009) Seasonal variations of microbial abundances and virus- versus flagellate-induced mortality of picoplankton in three peri-alpine lakes. *J Plankton Res* **31**: 1161–1177.
- Ramette, A. (2007) Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol* **62**: 142–160.
- Scharek, R., and Latasa, M. (2007) Growth, grazing and carbon flux of high and low nucleic acid bacteria differ in surface and deep chlorophyll maximum layers in the NW Mediterranean Sea. *Aquat Microb Ecol* **46**: 153–161.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., and John, R. (2012) PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol* **113**: 1014–1026.



- Sutton, D.C., and Besant, P.J. (1994) Ecology and characteristics of bdellovibrios from three tropical marine habitats. *Mar Biol* **119**: 313–320.
- Thingstad, T.F., and Rassoulzadegan, F. (1999) Conceptual models for the biogeochemical role of the photic zone microbial food web, with particular reference to the Mediterranean Sea. *Prog Oceanogr* **44**: 271–286.
- Vaulot, D., Courties, C., and Partensky, F. (1989) HETEROGENEITY IN FRAGILITY AND OTHER BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL PROPERTIES A Simple Method to Preserve Oceanic Phytoplankton for Flow Cytometric Analyses through division by the corresponding parameters. *Cytometry* **10**: 629–635.
- Wickham, H., Chang, W., Henry, L., Pedersen, T.L., Takahashi, K., Wilke, C., *et al.* (2019) ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics. <https://cran.r-project.org/package=ggplot2>.
- Woolway, R.I., and Merchant, C.J. (2019) Worldwide alteration of lake mixing regimes in response to climate change. *Nat Geosci* **12**: 271–276 <http://dx.doi.org/10.1038/s41561-019-0322-x>.

## **Résumé:**

L'impact des événements extrêmes (e.g. les tempêtes, les fortes précipitations, les canicules ou la sécheresse, etc...) sur les communautés microbiennes aquatiques a été très peu étudié. Le projet MESOLAC a consisté à tenter de combler une partie de cette lacune pour les communautés planctoniques du Léman. A l'aide de mésocosmes déployés dans le lac au cours du mois de juillet 2019, l'impact de l'apport de carbone organique dissous (COD) associé à la brunification des eaux et un fort brassage a été testé sur la communauté des bactéries hétérotrophes totales et d'un groupe de bactéries prédatrices obligatoires d'autres bactéries, les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALOs). Deux traitements différents (en plus d'un contrôle) ont été appliqués consistant à des degrés divers d'abattement de la lumière, d'apport en COD et de brassage. Les résultats ont révélé que les traitements avaient peu ou pas d'effet sur les dynamiques de la communauté procaryote hétérotrophe, peut-être en raison d'une incapacité à utiliser le COD apporté, et des bactéries prédatrices. Il a toutefois été observé que les trois familles de BALOs présentaient des différences dans les cinétiques entre les trois conditions, laissant supposer à un effet indirect des traitements sur les BALOs en affectant dans un premier temps les proies.

**Mots-clés:** BALO, événement extrême, expérience in situ, mésocosmes, lac Léman

## **Abstract:**

The impact of extreme events (e.g. storms, heavy rainfall, heat waves or drought, etc.) on aquatic microbial communities has been little studied. The MESOLAC project was proposed to try to fill some of this gap for the planktonic communities of Lake Geneva. Using mesocosms deployed in the lake during July 2019, the impact of dissolved organic carbon (COD) input associated with water browning and mixing was tested on the community of total heterotrophic bacteria and a group of obligate predatory bacteria of other bacteria, the *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs). Two different treatments (in addition to a control) were applied consisting of varying degrees of light abatement, COD intake and water mixing. The results revealed that the treatments had little or no effect on the dynamics of the heterotrophic prokaryote community, possibly due to an inability to use the COD provided, as well as of the predatory bacteria. However, it was observed that the three families of BALOs could display different dynamics between the three conditions, suggesting an indirect effect of treatments by initially affecting their preys.

**Keywords:** BALO, extreme event, mesocosms, experience at field, Lake Geneva