





Université de Liège  
Département de Biologie, Écologie et Évolution  
Laboratoire d'Écologie Animale et d'Écotoxicologie  
Unité d'Écologie Marine

# **Étude de la communauté bactérienne planctonique et suivi de deux bioindicateurs de l'état de santé du milieu dans la Baie de la Revellata (Corse)**

**Stéphanie Polain**

Dissertation rédigée en vue de l'obtention du grade académique de Docteur en  
Sciences (océanologie)

2016-2017

Promoteurs:

Dr Mathieu Poulícek, Prof. Vincent Demoulin

Jury :

Prof. Jean-Pierre Thomé (Président)

Prof. Branko Velimirov (MedUni, Vienne, Autriche)

Dr Pierre Lejeune (Stareso, Corse, France)

Prof. Sylvie Gobert

Prof. Georges Daube

Dr Annick Wilmotte



*« Le plus beau sentiment que l'on puisse éprouver c'est le sens du mystère. C'est la source de toute vraie science. Celui qui n'a jamais connu cette émotion, qui ne possède pas de don d'émerveillement autant vaudrait qu'il fût mort: ses yeux sont fermés. »*

*Albert Einstein*



## Résumé

La mer Méditerranée est particulièrement sensible à la pollution et au phénomène d'eutrophisation en raison de la morphologie de son bassin semi-fermé rendant plus complexe la circulation des masses d'eau et augmentant leur temps de résidence. Au vu des pressions anthropiques qui s'y exercent (rejets d'eaux usées et de polluants, épuisement des ressources,...), l'écosystème côtier méditerranéen subit de lourdes modifications se traduisant par une diminution de la biodiversité, des changements de communautés et la disparition de certaines espèces. En plus d'altérer l'état de santé des zones littorales, ces perturbations d'origine anthropique peuvent également représenter un risque sanitaire pour l'homme via la consommation de produits de la mer ou lors d'activités récréatives.

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail de recherche était de contribuer au suivi de l'état de santé de l'environnement marin côtier en Méditerranée et de son évolution par l'étude de deux types d'indicateurs biologiques (bactéries et Bangiophycées). L'ensemble de l'étude s'est déroulé dans la Baie de la Revellata depuis la station STARESO où de nombreux projets de recherche ont été mis en place depuis les années 70. Afin de suivre les variations saisonnières et spatiales, les prélèvements ont été réalisés à différents moments entre 2009 et 2011 et en différents lieux dans et en dehors de la baie.

Le pyroséquençage nous a permis d'analyser en profondeur la structure de la communauté bactérienne de surface dans la Baie de la Revellata. Les résultats ont montré une variation saisonnière marquée par la dominance du clade SAR11 (*Alphaproteobacteria*) au printemps, remplacé par *Pseudomonas* (*Gammaproteobacteria*) en été et ensuite par les genres *Halomonas* (*Gammaproteobacteria*), *Erythrobacter* (*Alphaproteobacteria*) et le clade TM1040 des *Roseobacter* (*Alphaproteobacteria*) en automne. Les variations spatiales étaient quant à elles minimales en avril, reflétant l'homogénéité des masses d'eau à la fin du brassage hivernal, maximales en août, au cours de la période de stratification de la colonne d'eau et lorsque les pressions anthropiques sont plus présentes localement, et modérée en novembre. L'utilisation de cet outil de biologie moléculaire a également révélé une pollution fécale significative au niveau de l'égout de la station et plus erratique au niveau des autres sites de prélèvement, mais limitée à la période estivale.

L'utilisation des BIOLOG GEN III pour explorer le profil du métabolisme oxydatif des communautés bactériennes de l'eau libre et associées à l'herbier de *Posidonia oceanica* a confirmé une certaine variation saisonnière avec une consommation croissante des sucres et des acides aminés d'avril à novembre. Ces observations suggèrent une adaptation du métabolisme oxydatif en fonction de

l'origine de la matière organique. Par contre, aucune distinction n'a pu être faite au niveau fonctionnel entre les communautés bactériennes de l'eau libre et de l'herbier.

La présence de séquences appartenant à des bactéries fécales dans les prélèvements analysés par pyroséquençage a orienté ce travail vers l'évaluation de la qualité des eaux côtières dans la Baie de la Revellata. Nous avons alors centré cette partie sur la détection quantitative et spécifique de deux indicateurs de pollution fécale, *Escherichia coli* et *Enterococcus* sp., qui sont habituellement employés par les agences de protection de l'environnement, via l'utilisation conjointe d'un outil de biologie moléculaire, la q-PCR, et d'une méthode « prête à l'emploi », les Petrifilm 3M. Le taux de survie des cellules *E. coli* dans l'eau de mer a été mesuré en parallèle en raison de l'importance de ce critère pour être considéré comme une bonne espèce indicatrice. La contamination fécale des eaux de la baie s'est révélée être relativement faible et limitée aux sites soumis à des pressions anthropiques plus importantes. Les résultats ont également mis en lumière des problèmes de spécificité et les limitations que l'on peut rencontrer suivant la méthode de détection utilisée.

La dernière partie de ce travail était consacrée à l'analyse d'une seconde sorte d'indicateur biologique, les Bangiophycées. Leur rôle d'espèces indicatrices de rejets d'eaux usées a été mis en évidence lors de travaux antérieurs. Le dénombrement de ces algues rouges épiphytes au cours de cette étude a révélé une densité en Bangiophycées moindre par rapport aux campagnes précédentes. Cette diminution suggère également des rejets d'eaux usées faibles dans la Baie de la Revellata ou un meilleur traitement des eaux usées.

Finalement, les observations réalisées lors ce travail ont contribué à la description de la composition de la communauté bactérienne planctonique dans le nord-ouest de la mer Méditerranée, avec des données à proximité directe des côtes. De plus, elles ont permis l'évaluation de la qualité des eaux côtières de cette même région via l'utilisation de deux indicateurs biologiques.



## Abstract

The Mediterranean Sea is particularly susceptible to pollution and eutrophication due to the morphology of its semi-enclosed basin making more complex the circulation of water masses and increasing their residence time. Because of anthropogenic pressures (wastewater discharge, pollution, resources depletion,...), the Mediterranean coastal ecosystem suffered heavy modifications resulting in a loss of biodiversity, changes in communities and the disappearance of some species. In addition to the alteration of coastal areas, these anthropogenic disturbances may also pose a health risk for humans through the consumption of seafood or during recreational activities.

In this context, the overall objective of this research project was to contribute to the monitoring of the health of the coastal marine environment in the Mediterranean Sea and its evolution, by studying two types of biological indicators (bacteria and *Bangiophyceae*). The study was conducted entirely from the oceanographic station STARESO located in the Revellata Bay and where many research projects have been implemented since the 70s. In order to highlight seasonal and spatial variations, the samplings were performed at different times between 2009 and 2011 in different places inside and outside the bay.

Pyrosequencing allowed us to realize an in depth analysis of the heterotrophic bacterial community structure in surface waters of the Revellata Bay. Results showed a seasonal variation marked by the dominance of the SAR11 clade (*Alphaproteobacteria*) in spring, replaced by *Pseudomonas* (*Gammaproteobacteria*) in summer and then by the genera *Halomonas* (*Gammaproteobacteria*) *Erythrobacter* (*Alphaproteobacteria*) and TM1040 clade *Roseobacter* (*Alphaproteobacteria*) in autumn. Spatial variations were minimal in April, reflecting the homogeneity of water bodies at the end of the winter mixing, maximal in August, when the water column is stratified and the human pressures are locally more important, and moderate in November. The use of this molecular biology tool also revealed a fecal pollution. This one was mostly observed near the sewer of the oceanographic station, especially in August, but was mostly erratic at the other sites.

The use of BIOLOG GEN III to explore the oxidative metabolism of the bacterial communities from the water column or associated with the seagrass *Posidonia oceanica* confirmed a seasonal variation with an increasing consumption of sugars and amino acids from April to November. These observations suggest an adaptation of the oxidative metabolism according to the origin of the organic matter. In contrast, we were not able to highlight any functional difference between bacterial communities from the water column or the seagrass beds.

The presence of sequences belonging to fecal bacteria in samples analyzed by pyrosequencing has directed this work to the assessment of the quality of coastal waters in the Revellata Bay. Thus, we focused this part of the project on the quantitative and specific detection of two fecal bacterial indicators, *Escherichia coli* and *Enterococcus* sp., which are commonly used by environmental protection agencies, by using q-PCR and a ready to use method, 3M Petrifilm. The survival rate of *E. coli* sea water was assessed in parallel to determine if it can be considered as a good fecal indicator. Results showed that fecal contamination in the Revellata Bay was relatively low and restricted to areas subjected to greater anthropogenic pressures.

The last part of this research project was devoted to the analysis of a second biological indicator, the *Bangiophyceae*, because previous works have shown that these red algae were indicative of wastewater discharges. The enumeration of this epiphyte during this study showed a lower density compared to previous campaigns. This decrease also suggests low releases of sewage into the Revellata Bay and/or a better wastewater treatment.

Finally, observations conducted during this work have contributed to the description of the planktonic bacterial community composition in the north-west of the Mediterranean Sea, with data obtained in the immediate vicinity of the coast. In addition, they allowed the assessment of the quality of the coastal waters of the same region through the use of two biological indicators.

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mes deux promoteurs le Docteur Mathieu Poulicek et le Professeur Vincent Demoulin pour leur soutien et leurs enseignements. Merci à Mathieu, l'instigateur de ce projet, sans qui toute cette épopée n'aurait jamais été possible. Merci de m'avoir permis d'accéder au monde de la Science. Merci également à Vincent Demoulin pour le partage de ses innombrables connaissances.

Je remercie vivement le Professeur Jean-Pierre Thomé, alias le chef, pour sa disponibilité, son aide, son soutien et sa bonne humeur. Vous avez réussi à faire du labo, une famille. Et il faut savoir que cela n'a pas été une sinécure avec une équipe composée principalement de filles ! Heureusement, la retraite n'est plus trop loin ;-)

Merci à la non moins fabuleuse que mini unité d'écologie marine, Mathieu, Stéphane et Ophélie. Oph, je te remercie pour nos discussions dans l'entrebâillement de la porte du bureau et tes encouragements toujours très constructifs. Tu es ce qu'on peut appeler une belle rencontre !

Merci à tous mes petits collègues du LEAE : Arnaud, Anne, Valentine (les trois responsables du bureau de la commune ;-)), Virginie, Célia, Sibylle, Fofie, Delphine, Éric, Murielle, Nathalie, Catherine et tous les mémorants qui ont transité par le labo. Merci à Marielle, not' super secrétaire polyvalente, pour son soutien et ses bons conseils. Une vraie mère pour nous ! Merci pour cette agréable ambiance de travail au quotidien, pour les cafés, les anniversaires, les pots (pas de fleurs !) et tout le reste. Un merci tout spécial à mon équipe préférée de pipelettes (Marielle, Anne et Éric) pour ces pauses plus que divertissantes et pour leur réconfort dans les moments plus difficiles. Et au bout de ces longues années, chacun à votre façon, vous avez pris une place bien plus importante que celle de simples collègues.

Un grand merci également à Rosa, Andrée, Emilie et Damien du laboratoire du Professeur Demoulin pour leur accueil toujours aussi sympathique et leur aide lors de mes visites. Grâce à vous le domaine de l'algologie me paraît beaucoup moins mystérieux. Merci, notamment, au Dr Denis Baurain pour ses conseils.

Je remercie tous mes collègues de mission à STARESO pour les moments de travail (et oui, il y en avait aussi), de rigolade et les soirées animées, c'était toujours un plaisir de vous revoir. Merci à Mme Chef Sylvie de veiller au bon déroulement de nos missions. Merci à Loïc pour ma première plongée autonome et ma dernière plongée à STARESO. Merci à Doro pour nos longues, très longues conversations. Et merci beaucoup à l'équipe de planctologie pour les pauses

glaces au port de Calvi. Que d'instants rafraichissants. La prochaine, c'est pour moi ! ;-)

Je ne peux pas parler des missions sans remercier l'équipe de STARESO au grand complet (passée, présente et future) et son directeur Pierre Lejeune. Merci pour votre contribution au bon fonctionnement de mes missions, la mise à disposition du matériel et des labos, votre hospitalité et votre bonne humeur. C'est vrai le soleil, la mer, le cadre c'est génial mais, sans vous, nos séjours auraient vraiment été moins agréables. Merci à tous ceux qui ont risqué leur vie avec moi en plongée et ils furent nombreux à se succéder (non pas pour des raisons de santé...). Merci à Loïc et Antho pour leur accueil dans leur petit club de « la pause de 17h ». Merci à Richard pour les super bons petits plats qu'il nous concoctait et la mousse au chocolat, miam ! Et je suis désolée pour Alex à qui je cassais les oreilles lors des très nombreux voyages depuis et vers l'aéroport... Hein, mon petit monsieur ?!

Je tiens à remercier le Professeur Sylvie Gobert, Renzo Biondo, le Docteur Annick Wilmotte, Marine Renard, le Docteur Marc Hanikenne, le Professeur Georges Daube, le Docteur Bernard Taminiau et le Docteur Carine Nezer pour leurs interventions dans les manips de dosage des nutriments, de séquençage, de PCR, de q-PCR et de pyroséquençage réalisées au sein de leur laboratoire. Merci pour leur disponibilité, leur aide et les échanges constructifs que nous avons pu avoir et qui m'ont permis d'avancer.

Merci à tous ces scientifiques comme Marc Binard, le Docteur Anne Goffart, l'équipe scientifique de STARESO, qui m'ont été d'une grande aide pour enrichir mon panel de données.

Merci aux Professeurs Sylvie Gobert, Branko Velimirov (de l'Université de Vienne), Georges Daube et Jean-Pierre Thomé, et aux Docteurs Annick Wilmotte et Pierre Lejeune (de STARESO) d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Parce que rien ne se fait sans argent, je remercie également le FNRS et l'ULg pour le financement de ce projet et des différentes missions de terrain.

Parce que vous avez tous eu un rôle crucial dans ce travail, j'espère n'oublier personne...

Passons maintenant aux choses sérieuses...

Merci à mes amis, tout ce groupe de personnes aussi bizarres (et je ne parle pas que de Rere) que variées mais plus que géniales, pour leur soutien, leur réconfort, leurs encouragements (même leur relecture) mais aussi tous ces bons moments (randos, soirées, Noël, vacances, naissances (surtout celle de ma filleule !), mariages et j'en passe). Merci à Val pour les mots justes qu'elle a

toujours su trouver. Merci à Audrey pour avoir joué le rôle de mon amie, de mon agent et de mon coach sportif (et merci aux Ju d'avoir pris le relais). Merci les gars !

Merci à ma famille de m'avoir soutenue dans cette voie que j'avais choisie depuis bien longtemps. On peut clairement le dire, sans eux, je ne serais pas là. Ce n'était pas toujours facile de me suivre mais votre présence me suffisait. Merci d'y avoir cru ! Merci papy !

Je ne pourrais jamais assez remercier Alphonse pour son immense soutien dans toutes les situations. Je peux vous dire qu'il en a vu des vertes et des pas mûres, mais ça je suis sûre que la plupart d'entre vous le savent déjà. Cette fois, il l'a vraiment méritée sa médaille ! ;-) Sans lui, rien n'aurait été pareil ! Merci et Pardon !

Et voilà, c'est fini ! C'est une page qui se tourne, la fin d'une aventure ! On ne dirait pas comme ça mais c'est fou la place qu'une thèse peut prendre. Une véritable expérience professionnelle et humaine, et oui, pas seulement scientifique. Avec beaucoup d'effort, je pourrais presque dire que ça va me manquer... ;-) Mais n'exagérons pas ! Une nouvelle page s'écrit...

Steph, alias Germaine, Bobette, votre  
fille chérie, La vipère, la truite, ...  
J'en oublie ?



## Liste des figures

- Figure 1 - Transformation du paysage côtier naturel, exemple du versant méditerranéen (Guillaume & Comeau, 2005). .....3
- Figure 2 – Image satellite prise de nuit et illustrant l'importance des activités et de la présence humaine au niveau du bassin méditerranéen (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009).....5
- Figure 3 - Arbre phylogénétique du vivant séparant les organismes en trois grands domaines : les *Bacteria*, les *Archaea* et les *Eucarya*. D'après Woese *et al.* (1990) et basé sur la comparaison des ARNr 16S et 18S. ....11
- Figure 4 - Diversité morphologique chez les bactéries. Les bactéries sphériques sont appelées coques et peuvent s'associer en paires, chainettes, tétrades ou encore amas. Les bacilles ressemblent à des bâtonnets et peuvent également former des paires ou des chaînes. Les coccobacilles ont une forme intermédiaire entre les coques et les bacilles. Les vibrions rappellent la forme d'une virgule. Enfin, parmi les bactéries en spirale, on distingue les spirilles qui possèdent une touffe de flagelles à l'une ou aux deux extrémités et les spirochètes qui ont un dispositif flagellaire interne.....12
- Figure 5 - Arbre basé sur la comparaison des ARNr 16S illustrant les phylums bactériens majeurs d'après Ludwig & Klenk (2001). Seuls les très petits phylums *Chrysiogenetes*, *Gemmatimonadetes* et *Thermodesulfobacteria* ne sont pas représentés. Les triangles regroupent les organismes apparentés, l'angle à la base du groupe indique à peu près le nombre de séquences au sein du phylum et les arêtes partant de la base représentent la branche la plus courte et la branche la plus longue au sein du groupe. Des séquences d'*Archaea* et *Eucarya* ont été utilisées comme « outgroup » pour enraceriner l'arbre (flèche). ....13
- Figure 6 - Distribution des micro-organismes et organismes en fonction de leur taille en milieu aquatique (Kirchman, 2012). Nous pouvons visualiser que plus un organisme est de petite taille, plus il sera abondant. ....17
- Figure 7 – Échantillonnage global des communautés de bactérioplancton marin. Neuf endroits dans le monde ont été échantillonnés à 5 mètres de profondeur. Le nombre d'OTU et de séquences clonées est indiqué à côté des camemberts représentant la distribution des groupes taxonomiques majeurs. La taille des camemberts est proportionnelle au nombre d'OTU échantillonnées à chaque site (Pommier *et al.*, 2007). ....21
- Figure 8 – Représentation phylogénétique des clades majeurs d'*Archaea* et *Bacteria* marines. Les groupes avec un seul astérisque sont principalement présents dans les eaux de surface et mésopélagiques durant les hivers polaires, ceux avec deux astérisques proviennent principalement de la zone photique, et ceux avec un + sont principalement côtiers (Fuhrman & Hagström, 2008). ....23

Figure 9 - Apparition des différentes formes de vie sur Terre. Durant une majeure partie de cette histoire, seules les cellules procaryotiques étaient présentes, les premiers eucaryotes n'apparaissant que 1,7 milliard d'années avant notre ère. Les procaryotes désignent les bactéries et les archées d'après Rasmussen <i>et al.</i> (2008), Payne <i>et al.</i> (2009), Czaja (2010), Humphreys <i>et al.</i> (2010) dans Kirchman (2012).....	25
Figure 10 – Représentation schématique du cycle du carbone dans les océans (Falkowski, 2012). .....	26
Figure 11 - Représentation schématique du cycle de l'azote dans les océans (© Department of Environment and Heritage Protection, Queensland Government).....	27
Figure 12 - Représentation schématique du cycle du phosphore dans les océans (© Department of Environment and Heritage Protection, Queensland Government).....	28
Figure 13 – Réseau trophique pélagique reprenant la chaîne trophique classique et la boucle microbienne. ....	29
Figure 14 - Estimation de la probabilité de maladies thalassogéniques en fonction des moyennes quotidiennes de <i>Bacteroidales</i> et <i>Enterococcus</i> estimées par q-PCR (Wade <i>et al.</i> , 2010). .....	34
Figure 15 – Les différentes voies d'entrée des bactéries fécales dans l'environnement marin. Parmi les sources, il y a les eaux de ruissellement (A), les émissaires d'égouts et fuites d'eaux usées (B), le sable en tant que réservoir (C), la remise en suspension à partir du sédiment (D), l'eau en elle-même de par sa capacité à influencer, via l'hydrographie locale, le retrait ou la rétention des bactéries au niveau de la plage (E), les événements fécaux (F) et les autres réservoirs potentiels, comme les algues (G) (Halliday & Gast, 2011). .....	36
Figure 16 - Comparaison entre les filaments fossiles (A à C) et des représentants contemporains de <i>Bangia artropurpurea</i> (D à E). Coupe longitudinale dans un filament unisérié (A, D), coupe longitudinale dans un filament plurisérié (B, E) et coupe transversale dans un filament plurisérié (C, F). Échelle : 20 µm pour A, 50 µm pour B, 30 µm pour C, 35 µm pour D, 80 µm pour E et 50 µm pour F (Butterfield <i>et al.</i> , 1990). .....	40
Figure 17 - Mode de formation particulier des monospores chez les Compsopogonales. Une cellule indifférenciée est divisée en deux parties inégales par la formation d'une paroi courbe. La plus petite cellule, une monospore se retrouve isolée et libérée par la rupture de la paroi externe (visible sur la photographie). La cellule à gauche de la photographie est en cours de division (Meyer, 2005). ....	45
Figure 18 - Carte du bassin méditerranéen (© Google Map).....	54
Figure 19 - Carte des sites relatifs aux prélèvements bactériens autour de la station océanographique STARESO dans la Baie de la Revellata (Corse, France). .....	55



Figure 20 - Carte situant les transects réalisés pour le prélèvement des Bangiophycées et les quatre sites échantillonnés pour le suivi à court terme de leur densité, dans le port de STARESO. 1 = Bouée verte ; 2 = Échelle ; 3 et 4 = Tombant sud. ....	59
Figure 21 - Phorophyte <i>Halopteris scoparia</i> (A) et prélèvement d'une touffe (B) (A. Donnay).....	60
Figure 22 – Précipitations mensuelles moyennes et maximales à Calvi (Corse), exprimées en nombre de millimètres de pluie en 2010 et 2011. Les données proviennent de la station météorologique de l'aéroport de Calvi, elles n'ont pas été acquises dans le cadre de ce projet et ont été fournies par Marc Binard (ULg). ....	62
Figure 23 - Radiations solaires mensuelles moyennes et maximales ( $W m^2$ ) mesurées dans la région de Calvi (Corse) en 2011. Ces mesures ont été réalisées par une station météorologique automatique AWS 2700 (Aanderaa, Berge, Norway) dans le cadre du projet RACE. ....	65
Figure 24 - Moyennes mensuelles de la température de l'eau au niveau du port de la station STARESO, sur la période 2009-2011. La moyenne a été réalisée sur des mesures effectuées toutes les 10 min. Ces résultats ont été fournis par l'équipe scientifique de la station de recherches STARESO.....	67
Figure 25 - Evolution des concentrations ( $\mu M$ ) en Nitrate ( $NO_3^-$ ), Ammonium ( $NH_4^+$ ) et Phosphate ( $PO_4^{3-}$ ) à la surface (sf) et au fond (fd), au niveau de l'égout de STARESO (Eg), de la tache de sable (TS), de la crique de l'Alga (Al) et de la Punta Bianca (PB) en 2010. ....	70
Figure 26 - Evolution des concentrations ( $\mu M$ ) en Nitrate ( $NO_3^-$ ), Ammonium ( $NH_4^+$ ) et Phosphate ( $PO_4^{3-}$ ) à la surface (sf) et au fond (fd), au niveau de l'égout de STARESO (Eg), de la tache de sable (TS), de la crique de l'Alga (Al) et de la Punta Bianca (PB) en 2011. ....	71
Figure 27 – Evolution des densités bactériennes ( $\times 10^5$ Bactéries $mL^{-1}$ ) au niveau de la surface, de la canopée, de la matre et du fond à l'égout (Eg) et à la tache de sable (TS) en 2009. ....	73
Figure 28 - Evolution des densités bactériennes ( $\times 10^5$ Bactéries $mL^{-1}$ ) au niveau de la surface, de la canopée, de la matre et du fond à l'égout (Eg), la tache de sable (TS), la crique de l'Alga (Al) et la Punta Bianca (PB) en 2010. ....	76
Figure 29 - Evolution des densités bactériennes ( $\times 10^5$ Bactéries $mL^{-1}$ ) au niveau de la surface, de la canopée, de la matre et du fond à l'égout (Eg), la tache de sable (TS), la crique de l'Alga (Al) et la Punta Bianca (PB) en 2011. ....	77
Figure 30 - Variation théorique de la biomasse phytoplanctonique, de l'intensité lumineuse et de la concentration en nutriments inorganiques au cours d'une année type dans un écosystème aquatique tempéré (Kirchman, 2012). ....	78
Figure 31 - Concentrations mensuelles moyennes en chlorophylle- <i>a</i> ( $ng L^{-1}$ ). Ces données nous ont été fournies par le Dr A. Goffart du Laboratoire d'Océanologie (ULg).....	80

Figure 32 - Nombre mensuel moyen de personnes fréquentant la station STARESO. Ces données nous ont été fournies par la Station STARESO. ....	82
Figure 33 - Map showing the location of the study site in the Revellata Bay near Calvi in Corsica (42°35'N-8°43'E; France). Sampling sites: a sewer located in the port of the STARESO oceanographic station; a patch of sand at 100 m away from the STARESO sewer; a creek named Alga; the Punta Bianca is a site situated outside of the Revellata Bay and normally free from human impacts.....	90
Figure 34 - Average relative abundance of bacteria at the phylum level between different sampling seasons (A = April, B = August, C = November) for all sites. Others are phyla whose the annual average relative abundance was below 0.05%. Populations that were not attributed to a defined phylum were labelled with the last defined taxonomic level followed by "unclassified" . ...	95
Figure 35 - Non-metric multi-Dimensional Scaling (NMDS) of the different sample dataset. ....	100
Figure 36 - Comparison of the relative abundance of the twenty most abundant bacterial genera (according to the annual average) between the different sampling sites in April (A), August (B) and November (C). "Others" refers to genera whose the annual average relative abundance was below 0.05%. Populations that were not attributed to a defined genus were labelled with the last defined taxonomic level followed by "unclassified" .....	103
Figure 37 - Comparison of the bacterial relative abundance of genera that differed significantly between the sampling seasons at the sewer (A), the patch of sand (B), the Alga creek (C) and the Punta Bianca (D). Only genera whose abundance was higher than 0.2% for at least one sampling season are represented. Populations that were not attributed to a defined genus were labelled with the last defined taxonomic level followed by "unclassified".	106
Figure 38 - Comparison of the bacterial relative abundance of genera that differed significantly between the sampling sites in April (A), August (B), and November (C). Only genera whose abundance was higher than 0.2% to at least one sampling site are represented. Populations that were not attributed to a defined genus were labelled with the last defined taxonomic level followed by "unclassified".....	110
Figure 39 - Comparison at the genus level of the relative abundance of bacteria potentially involved in terrestrial and anthropic contaminations of water between the different sampling sites in spring (A), in summer (B) and in fall (C). For the genera <i>Acinetobacter</i> and <i>Arcobacter</i> which can include both native and non-native species to the marine environment, only some species are illustrated. The codes between brackets are GenBank accession numbers. Populations that were not attributed to a defined genus were labelled with the last defined taxonomic level followed by "unclassified".	114

Figure 40 - Plaque BIOLOG GEN III après 24 h d'incubation d'un échantillon d'eau de mer. Visualisation des puits positifs (coloration violette) et négatifs (incolore).....	123
Figure 41 - ACP réalisée sur les 94 substrats carbonés du test BIOLOG GEN III potentiellement utilisés par les communautés bactériennes des prélèvements effectués à l'égout, la tache de sable, l'Alga et la Punta Bianca en surface et au niveau de la canopée de l'herbier de <i>Posidonia oceanica</i> (au fond en ce qui concerne l'égout) en avril, mai-juin, août et novembre 2011. ....	126
Figure 42 - Cluster illustrant les relations entre les communautés bactériennes des prélèvements effectués à l'égout, la tache de sable, l'Alga et la Punta Bianca en surface et au niveau de la canopée de l'herbier de <i>Posidonia oceanica</i> (au fond en ce qui concerne l'égout) en avril, mai-juin, août et novembre 2011 sur base de leur utilisation des 94 substrats carbonés du test BIOLOG GEN III. ....	127
Figure 43 - Proportions cumulées des différents types de sources de carbone utilisées à l'égout, la tache de sable, l'Alga et la Punta Bianca en surface et au niveau de la canopée de l'herbier de <i>Posidonia oceanica</i> (au fond en ce qui concerne l'égout) en avril (A), mai-juin (B).....	130
Figure 44 – Profils génétique (A) et métabolique (B) des communautés bactériennes de surface à l'égout, à la tache de sable, à l'Alga et à la Punta Bianca, en avril, août et novembre 2011. Le diagramme représente les deux premières dimensions de l'analyse NMDS réalisée à partir des matrices de similarités (voir texte pour plus de détail sur les analyses).....	136
Figure 45 - Test Petrifilm 3M après 24 h d'incubation avec 1 mL d'eau prélevé en surface à la sortie de l'égout de STARESO. ....	146
Figure 46 - Production d'indole à partir de tryptophane. Modifié de MacFaddin <i>et al.</i> , 1980. ....	147
Figure 47 - Localisation du dispositif expérimental du test de mortalité d' <i>E. coli</i> par rapport à la station océanographique STARESO (A). Photo de la condition <i>in situ</i> dans <i>P. oceanica</i> (B). ....	149
Figure 48 - Graphique en nuage de points et régression linéaire (- -) du $\log_{10}$ du nombre de copies du gène <i>uidA</i> sur le Ct mesuré par q-PCR, pour une série de dilutions de 10 en 10 de l'échantillon standard d'ADN d' <i>E. coli</i> ATCC# 8739. L'analyse a été réalisée, à chaque fois, sur trois répliquas. ....	153
Figure 49 - Graphique en nuage de points et régression linéaire (- -) du $\log_{10}$ du nombre de copies du gène 23S sur le Ct mesuré par q-PCR, pour une série de dilutions de 10 en 10 de l'échantillon standard d'ADN d' <i>E. faecalis</i> ATCC# 29212. L'analyse a été réalisée, à chaque fois, sur trois répliquas. ....	154
Figure 50 - Variation de la densité des bactéries mésophiles ( $\times 10^6$ CFU $100 \text{ mL}^{-1}$ ) à quatre niveaux différents de la colonne d'eau, à l'égout de STARESO (Eg), à la tache de sable (TS), à la crique de l'Alga (Al) et à la Punta Bianca (PB) au cours de l'année 2011.....	157

Figure 51 - Variation de la densité des <i>Enterobacteriaceae</i> ( $\times 10^3$ CFU 100 mL <sup>-1</sup> ) à quatre niveaux différents de la colonne d'eau, à l'égout de STARESO (Eg), à la tache de sable (TS), à la crique de l'Alga (Al) et à la Punta Bianca (PB) au cours de l'année 2011.....	159
Figure 52 - Variation de la densité des coliformes ( $\times 10^3$ CFU mL <sup>-1</sup> ) à quatre niveaux différents de la colonne d'eau, à l'égout de STARESO (Eg), à la tache de sable (TS), à la crique de l'Alga (Al) et à la Punta Bianca (PB) au cours de l'année 2011. ....	160
Figure 53 - Évolution de la densité des coliformes (CFU 100 mL <sup>-1</sup> ) au niveau du port de STARESO et de l'Alga entre 1982 (A. Wilmotte), 1991 (M. Janssens) et 2011. ....	162
Figure 54 - Variation de la densité des <i>E. coli</i> (CFU mL <sup>-1</sup> ) à quatre niveaux différents de la colonne d'eau à l'égout de STARESO (Eg), à la tache de sable (TS), à la crique de l'Alga (Al) et à la Punta Bianca (PB) au cours de l'année 2011. ....	163
Figure 55 - Arbre phylogénétique basé sur la méthode du Neighbor-Joining montrant les relations entre les séquences issues des colonies identifiées comme faux positifs sur les Petrifilm 3M Select <i>E. coli</i> (en noir) et un panel de séquences d'ADNr 16S avec <i>G. Obscuriglobus</i> (en brun) comme outgroup. L'analyse a impliqué 39 séquences. Parmi celles-ci, nous retrouvons les séquences souches et environnementales les plus proches obtenues par les outils BLAST et SeqMatch de RDP, une séquence souche d' <i>E. coli</i> , des séquences souches de quatre espèces produisant des faux positifs sur les Petrifilm 3M Select <i>E. coli</i> et des séquences détectées dans nos échantillons analysés par métagénomique (les 10 plus fréquentes, 5 pathogènes et une <i>E. coli</i> ). Les valeurs de bootstrap (% sur 1000 répliquions) sont notées au niveau des nœuds. Code couleur selon le phylum: en jaune : les <i>Bacteroidetes</i> ; en turquoise : les <i>Actinobacteria</i> ; en orange : les <i>Betaproteobacteria</i> ; en bleu : les <i>Gammaproteobacteria</i> et en vert : les <i>Alphaproteobacteria</i> ; en gras : les séquences Petrifilm 3M testées.....	168
Figure 56 - Évolution de la température (°C) et de l'intensité lumineuse (Lux) dans l'herbier de <i>P. oceanica</i> au cours des 14 jours d'incubation. ....	172
Figure 57 - Évolution de la température (°C) et de l'intensité lumineuse (Lux) en dehors de l'herbier de <i>P. oceanica</i> au cours des 14 jours d'incubation. ....	173
Figure 58 - Déclin des <i>E. coli</i> (Log <sub>10</sub> Cell 100 mL <sup>-1</sup> ) incubées durant 14 jours en milieu marin, au niveau de l'herbier de <i>P. oceanica</i> (Int can), en dehors de l'herbier (Ext can) et dans les conditions contrôlées au laboratoire (Ctrl). Mesures réalisées par q-PCR. ....	174
Figure 59 - Déclin des <i>E. coli</i> (Log <sub>10</sub> CFU 100 mL <sup>-1</sup> ) incubées durant 14 jours en milieu marin, au niveau de l'herbier de <i>P. oceanica</i> (Int can), en dehors de l'herbier (Ext can) et dans les conditions contrôlées au laboratoire (Ctrl). Mesures réalisées par Petrifilm 3M.....	175

Figure 60 - Relation entre les densités d' <i>E. coli</i> ( $\text{Log}_{10}$ Cell ou CFU 100 mL <sup>-1</sup> ) déterminée par q-PCR et à l'aide des Petrifilm 3M. ....	178
Figure 61 - Variations des densités totales en Bangiophycées (Nb mm <sup>-2</sup> ) le long du transect Nord-Sud (A) à 3 m de profondeur et du transect vers l'Est-Sud-Est (B), réalisés dans le port de STARESO à six périodes différentes entre 2009 et 2011. ....	186
Figure 62 - Densités des différentes espèces de Bangiophycées (Nb mm <sup>-2</sup> ) le long du transect Nord-Sud réalisé dans le port de la station STARESO à six périodes différentes (A = août 2009, B = novembre 2009, C = juin 2010, D = août 2010, E = novembre 2010, F = avril 2011) entre 2009 et 2011. ET = <i>Erythrotrichia carnea</i> , EC = <i>Erythrocladia sp.</i> , SA = <i>Stylonema alsidii</i> , SCC = <i>Stylonema cornu-cervi</i> et CO = <i>Chroodactylon ornatum</i> . Les comptages ont été réalisés sur <i>Halopteris scoparia</i> . ....	189
Figure 63 - Concentrations en NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (µM) le long du transect Nord-Sud réalisé dans le port de la station à six périodes différentes (A = août 2009, B = novembre 2009, C = juin 2010, D = août 2010, E = novembre 2010, F = avril 2011) entre 2009 et 2011. ....	192
Figure 64 – Densités des différentes espèces de Bangiophycées (Nb mm <sup>-2</sup> ) le long du transect vers l'Est-Sud-Est réalisé dans le port de la station STARESO à six périodes différentes (A = août 2009, B = novembre 2009, C = juin 2010, D = août 2010, E = novembre 2010, F = avril 2011) entre 2009 et 2011. ET = <i>Erythrotrichia carnea</i> , EC = <i>Erythrocladia sp.</i> , SA = <i>Stylonema alsidii</i> , SCC = <i>Stylonema cornu-cervi</i> et CO = <i>Chroodactylon ornatum</i> . Les comptages ont été réalisés sur <i>Halopteris scoparia</i> . ....	195
Figure 65 - Concentrations en NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (µM) le long du transect vers l'Est-Sud-Est réalisé dans le port de la station STARESO à six périodes différentes (A = août 2009, B = novembre 2009, C = juin 2010, D = août 2010, E = novembre 2010, F = avril 2011) entre 2009 et 2011. ....	198
Figure 66 - Évolution des concentrations en nutriments (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ; µM) et de la densité totale en Bangiophycées (Nb mm <sup>-2</sup> ) au niveau de quatre sites de prélèvement dans le port de STARESO (A, B, C et D) du 12 juillet au 4 août 2011. A = Bouée verte, à l'Est, 4,7 m de profondeur, B = Échelle du port, au Nord, 3,2 m de profondeur, C = Tombant, au Sud, 2 m de profondeur et D = Tombant, au Sud, surface. Les comptages aux sites A, B et C ont été réalisés sur <i>Halopteris scoparia</i> et au site D sur <i>Cladophora prolifera</i> . ....	203
Figure 67 - Evolution de la densité totale en Bangiophycées (Nb.mm <sup>-2</sup> ) sur <i>Halopteris scoparia</i> dans le port de la station STARESO entre 1981 et 2011 à deux saisons différentes (printemps et été). Les données présentées dans ce graphique proviennent de travaux antérieurs réalisés dans le laboratoire du professeur Vincent Demoulin (81/82 : A. Goffart, 87/88 : X. Detienne, 04/05 : M. Meyer, 07/08 : C. Struvay et 10/11 : cette étude). Le printemps 82 et l'été 88 n'ont pas été déterminés. ....	208

Figure 68 - Evolution de la densité en Bangiophycées (Nb.mm<sup>-2</sup>) sur *Halopteris scoparia* à la crique de l'Alga (A) et au site de la « bibliothèque » (B) entre 1987 et 2011 à deux saisons différentes (printemps et été). Les données présentées dans ce graphique proviennent de travaux antérieurs réalisés dans le laboratoire du professeur Vincent Demoulin (87/88 : X. Detienne, 04/05 : M. Meyer, 07/08 : C. Struvay et 10/11 : cette étude). .....210

Figure 69 - Variation de la densité totale en Bangiophycées (Nb mm<sup>-2</sup>) le long du transect Nord-Sud (A) et du transect vers l'Est-Sud-Est (B) réalisé dans le port de STARESO, comparaison entre août 2007 (Struvay, 2008) et août 2010 (cette étude). Les comptages ont été réalisés sur *Halopteris scoparia*. .....212

Figure 70 – Diagramme de synthèse illustrant les variations temporelles des différents paramètres mesurés durant notre étude dans la Baie de la Revellata (Calvi, Corse) en 2011.....216

Figure 71 – Comparaison de la structure des communautés bactériennes obtenues au niveau de la Baie de la Revellata et à différents endroits dans le monde. Modifié de Pommier *et al.*, 2007. ....222

## Liste des tableaux

Tableau 1 - Composition biochimique des bactéries à croissance rapide (temps de génération : 1 h ou moins) ou lente (échelle du jour) par rapport aux eucaryotes (Förster <i>et al.</i> , 2003, Kirchman, 2012).....	11
Tableau 2 - Description succincte des différentes classes de <i>Proteobacteria</i> d'après Garrity <i>et al.</i> (2005) dans Sherwood <i>et al.</i> (2010).....	15
Tableau 3 - Règlementation sanitaire microbiologique des eaux de baignade selon la directive européenne 2006/7/CE.....	37
Tableau 4 - Taxonomie actuelle des algues rouges (Yoon <i>et al.</i> , 2010) d'après (Yoon <i>et al.</i> , 2006).....	42
Tableau 5 - Récapitulatif des différentes profondeurs (en mètre) échantillonnées pour chacun des sites étudiés.....	57
Tableau 6 - Summary table of sequence reads, OTU's number, Goods coverage and values of richness (ACE and Chao1) and diversity (non-parametric Shannon and Simpson) indices, at 97 % similarity.....	97
Tableau 7 - Liste des sources de carbone et des sensibilités chimiques testées par les microplaques BIOLOG GEN III.....	121
Tableau 8 – Taille du génome, identification et nombre de copies du gène ciblé et séquences des amorces et sondes utilisées pour les deux organismes, <i>E. coli</i> et <i>E. faecalis</i> , analysés par q-PCR.....	145
Tableau 9 - Rendement d'extraction de l'ADN de cultures pures d' <i>E. coli</i> et <i>E. faecalis</i> , exprimé en moyenne $\pm$ écart-type (n=9).....	155
Tableau 10 - Identités des souches les plus proches des séquences issues des colonies identifiées comme faux positifs sur nos Petrifilm 3M Select <i>E. coli</i> . .....	168
Tableau 11 - Évaluation du taux de décroissance ( $t_{90}$ ; jours) pour les cellules d' <i>E. coli</i> énumérées par Petrifilm 3M et q-PCR dans les conditions contrôles et <i>in situ</i> dans et en dehors de l'herbier de <i>Posidonia oceanica</i> . ....	177
Tableau 12 - Évolution des concentrations en $\text{NH}_4^+$ , en $\text{NO}_3^-$ et en $\text{PO}_4^{3-}$ dans le port de la station STARESO entre 1981 et 2011. Les données présentées dans ce graphique proviennent de travaux antérieurs réalisés dans le laboratoire du professeur Vincent Demoulin (81/82 : A. Goffart, 97/98 : S. Larock, 98/99 : M. Vranken, 07/08 : C. Struvay et 09/10/11 : cette étude). .....	209
Tableau 13 - Évolution des concentrations en $\text{NH}_4^+$ , en $\text{NO}_3^-$ et en $\text{PO}_4^{3-}$ à la crique de l'Alga entre 1981 et 2011. Les données présentées dans ce graphique proviennent de travaux antérieurs réalisés dans le laboratoire du professeur Vincent Demoulin (81/82 : A. Goffart, 97/98 : S. Larock, 98/99 : M. Vranken et 10/11 : cette étude).....	211





# Table des matières

Abstract.....	vii
Résumé .....	vii
Remerciements.....	xi
Liste des figures .....	xv
Liste des tableaux .....	xxiii
Chapitre 1 .....	1
Introduction générale.....	1
La littoralisation: un phénomène en plein essor qui n'est pas sans impact .....	1
Le cas particulier de la mer Méditerranée.....	4
Développement d'indicateurs .....	6
Les bactéries.....	9
Généralités.....	9
Classification .....	13
Les bactéries dans l'environnement marin.....	17
Bactéries pathogènes et intérêt des bactéries fécales .....	30
Les Bangiophycées .....	39
Définition au sens large .....	39
Biologie .....	42
Intérêts .....	45
Les Bangiophycées à Calvi.....	48
Objectifs du projet .....	50
Chapitre 2 .....	53
Description des sites d'échantillonnage et des paramètres environnementaux associés.....	53
Site d'étude .....	53
Site de prélèvement .....	56
Sites bactériologiques.....	56
Sites algologiques .....	58
Échantillonnage.....	59
Pour les bactéries .....	59

Pour les Bangiophycées .....	60
Évolution des paramètres environnementaux.....	60
Pluviosité.....	61
Ensoleillement .....	63
Température de l'eau .....	64
Teneur en nutriments .....	66
Densités bactériennes.....	72
Chlorophylle- <i>a</i> .....	78
Fréquentation de la station STARESO .....	81
Chapitre 3 .....	83
Diversité génétique et fonctionnelle des communautés bactériennes de subsurface .....	83
Seasonal and spatial variation of the heterotrophic bacterial community in surface coastal waters of North Corsica (Northwestern Mediterranean Sea) ...	85
Abstract.....	85
Introduction .....	86
Material and methods .....	88
Results and discussion .....	93
Supplementary information.....	118
Analyse des activités oxydatives des communautés bactériennes pélagiques	121
Matériel et méthodes .....	121
Résultats et discussion .....	124
Chapitre 4 .....	141
Évaluation de la contamination fécale de la Baie de la Revellata (Calvi, Corse) ..	141
Matériel et méthodes .....	142
PCR quantitative .....	142
Petrifilm 3M .....	146
Test de survie d' <i>E. coli</i> .....	149
Analyses statistiques.....	150
Résultats et discussion .....	151
Analyse q-PCR .....	151
Petrifilm 3M .....	156

Test de survie d' <i>E. coli</i> .....	170
Chapitre 5 .....	179
Évolution de la densité en Bangiophycées dans la Baie de la Revellata (Calvi, Corse).....	179
Matériel et méthodes .....	180
Comptages des Bangiophycées .....	180
Description des espèces étudiées.....	182
Résultats et discussion .....	183
Évolution des densités totales en Bangiophycées sur les transects N-S et E-SE .....	183
Évolution de la densité des différentes espèces de Bangiophycées.....	185
Évolution à court terme de la densité en Bangiophycées .....	201
Évolution des densités en Bangiophycées depuis les années 80.....	205
Comparaison des densités en Bangiophycées entre 2007 et 2010 .....	206
Chapitre 6 .....	213
Discussion générale et conclusions .....	213
Variation de la communauté bactérienne .....	215
La densité bactérienne est stable .....	215
Variations saisonnières et diminution de la diversité bactérienne .....	218
Variations spatiales durant la période estivale.....	221
Variation de l'activité fonctionnelle.....	224
Rôle de l'herbier de <i>P. oceanica</i> .....	226
Influence anthropique sur les communautés .....	228
Problématique de la source.....	229
Problématique de la survie.....	232
Problématique de la méthode de détection.....	235
Méthodes alternatives.....	238
Rôle de la Baie de la Revellata .....	243
Conclusions .....	244
Perspectives .....	247
References.....	250
Notes .....	295



# Chapitre 1

## Introduction générale

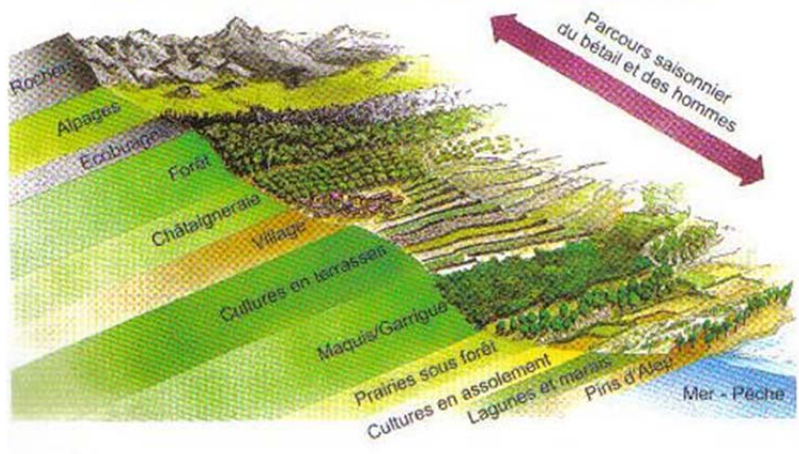
### **La littoralisation: un phénomène en plein essor qui n'est pas sans impact**

Partout dans le monde, l'utilisation par l'homme des ressources et des services provenant de la nature ne cesse de croître (Vacchi *et al.*, 2014). Au niveau de l'océan mondial, le littoral s'étire sur approximativement 440 000 km de long et constitue une zone clé pour les activités humaines, animales, végétales et géomorphologiques (Escudero Castillo *et al.*, 2012). Le littoral est attrayant, car il est propice aux échanges commerciaux et aux déplacements, il offre des richesses écologiques et des paysages inestimables d'un grand intérêt pour le développement social, industriel et récréatif (Escudero Castillo *et al.*, 2012). Il s'agit également d'une zone unique où la vie est agréable (Glasoe & Christy, 2004). Depuis la seconde partie du 20<sup>e</sup> siècle, cette zone a vu le développement sans précédent d'un processus ancien qui a pris une dimension mondiale : la littoralisation. Il consiste en une migration des populations vers les littoraux afin d'y exploiter les ressources halieutiques, ou encore favoriser les échanges globaux par le biais de grands ports et le développement de voies maritimes intercontinentales. Les paysages côtiers naturels se sont progressivement transformés en terrains agricoles,

aquacoles ainsi qu'industriels et résidentiels (Valiela, 2006)(Fig. 1). Cependant, même si quelques zones vierges persistent, la végétation y est progressivement remplacée par des surfaces imperméables bétonnées et asphaltées (Yuan & Bauer, 2007). Nous sommes donc rapidement passés d'une utilisation relativement simple à une industrialisation des ressources côtières (Vernberg, 1997, Vernberg & Vernberg, 2001) et cette tendance semble se maintenir pour le 21<sup>e</sup> siècle (Nicholls *et al.*, 2007). Selon les estimations, environ 60% de la population mondiale vivraient dans une bande de 100 km de large depuis le littoral (Vitousek *et al.*, 1997, Scherner *et al.*, 2013) et c'est également dans cette zone que se sont développées de grandes métropoles (Small & Nicholls, 2003).

Cette exploitation disproportionnée du littoral mène irrémédiablement à l'altération de la structure et du fonctionnement des écosystèmes côtiers (Kubiszewski & Costanza, 2012). Ces zones sont également soumises à de nombreux phénomènes naturels, principalement hydrométéorologiques, comme le vent, les vagues et les précipitations, qui peuvent être d'une ampleur importante lors d'ouragans ou de tsunamis (Escudero Castillo *et al.*, 2012). Ces phénomènes naturels combinés aux effets directs liés aux activités humaines et aux impacts pouvant être attribués aux changements climatiques rendent la zone littorale très vulnérable (Nicholls *et al.*, 2007, Escudero Castillo *et al.*, 2012). Les principales conséquences de l'urbanisation consistent en l'assèchement des zones humides telles que les mangroves, la déforestation et la construction d'infrastructures portuaires, de plages artificielles, de marinas et autres sites à caractère industriel (Guillaume & Comeau, 2005, Nicholls *et al.*, 2007). Ces pratiques mènent le plus souvent à une érosion accrue des côtes, à la modification de la circulation des eaux et à des processus de sédimentation (Guillaume & Comeau, 2005, Nicholls *et al.*, 2007). Nous assistons également à un phénomène de surpêche qui réduit considérablement les ressources halieutiques, aboutissant *in fine* à une diminution de la biodiversité et à des changements drastiques des

### Le versant méditerranéen traditionnel



### Le versant méditerranéen aujourd'hui

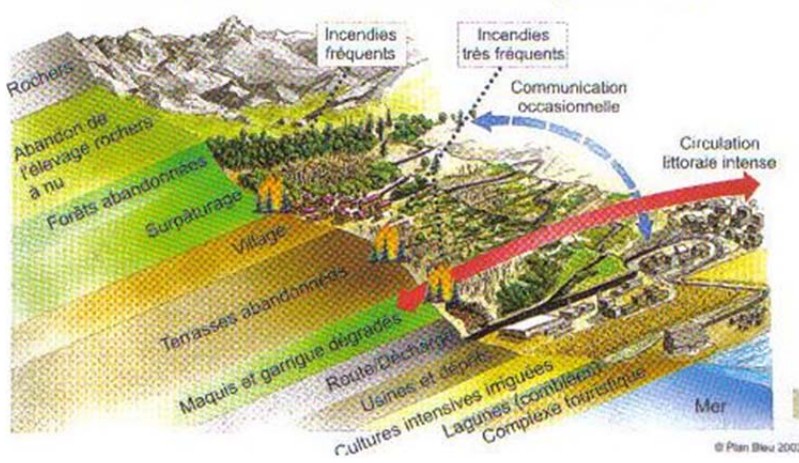


Figure 1 - Transformation du paysage côtier naturel, exemple du versant méditerranéen (Guillaume & Comeau, 2005).

communautés biologiques (Nicholls *et al.*, 2007, Scherner *et al.*, 2013). Des espèces invasives sont introduites par l'intermédiaire des transports maritimes commerciaux et touristiques (Guillaume & Comeau, 2005, Nicholls *et al.*, 2007). Toutefois, l'un des processus d'origine anthropique affectant le plus significativement les écosystèmes côtiers est l'eutrophisation (Rosenberg, 1985, Nixon, 1995). En effet, avec

l'augmentation des activités humaines, il y a une augmentation des rejets d'eaux usées. Celles-ci ainsi que les eaux de ruissellement provenant des terres agricoles et urbaines contiennent de nombreux polluants (métaux traces, pesticides, déchets pétroliers) et sont riches en nutriments et en matière organique (MO) (Lee *et al.*, 2006). Ces apports en nutriments peuvent conduire à des blooms algaux (Vitousek *et al.*, 1997, Lee *et al.*, 2006). Ceux-ci peuvent être toxiques et causer la mort d'importants stocks de poissons, contaminer les fruits de mer et provoquer, au final, des intoxications chez l'homme (Vitousek *et al.*, 1997, Lee *et al.*, 2006). Ces blooms peuvent accroître l'enrichissement des eaux via la reminéralisation des algues mortes (Rapport *et al.*, 1998, Connell *et al.*, 1999). En conclusion, les effets des activités anthropiques touchent aussi bien le bas que le haut de la chaîne alimentaire marine (Hallegraeff, 1993) et altèrent l'état de santé de l'environnement côtier.

### **Le cas particulier de la mer Méditerranée**

La mer Méditerranée est bordée par 22 pays et son littoral s'étire sur 46 000 km de long (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009, Marques *et al.*, 2014). De par sa position géographique centrale entre l'Europe, l'Asie et l'Afrique, le bassin méditerranéen est convoité de longue date pour le développement d'activités économiques. Il s'agit d'une des mers du globe dont le littoral est le plus aménagé et le plus peuplé. Dans les années 60, la population résidente méditerranéenne était estimée à 246 millions d'habitants, à 460 millions en 2008 et devrait, selon les projections, atteindre 520 à 570 millions d'ici 2030 (EEA, 2000, PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009). C'est une destination touristique très prisée puisqu'elle représente environ 30% du tourisme international (Marques *et al.*, 2014). La France et l'Espagne figurent parmi les régions les plus visitées du monde (DiSegni & Shechter, 2014), et pour certains pays méditerranéens, le tourisme constitue la première source de revenus. Néanmoins, cette activité conduit à une dégradation significative de l'environnement qui est



fortement accentuée par son caractère saisonnier (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009). En plus de la hausse de la population, de nouvelles infrastructures font également sans cesse leur apparition (Fig. 2) et il se pourrait que, dans les années à venir, environ 40% de la ligne côtière qui borde la Méditerranée soient occupés avec un développement significativement plus important sur la côte sud (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009).



Figure 2 – Image satellite prise de nuit et illustrant l'importance des activités et de la présence humaine au niveau du bassin méditerranéen (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009).

La morphologie particulière de son bassin permet une activité agricole intense (Marques *et al.*, 2014), laquelle a considérablement augmenté sur la période allant de 1967 à 2007 (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009). Sa production aquacole atteignait 1,3 million de tonnes en 2009 soit 1,8% de la production mondiale (FAO, 2011). Elle est le siège d'une grande variété d'industries avec 161 gros complexes industriels et ports commerciaux de taille importante (principalement localisés dans la partie nord-ouest ; Espagne, France, Italie ; Fig. 2) (EEA, 2000). Près de 220 000 bateaux de plus de 100 tonnes transitent chaque année en Méditerranée, représentant 30% du transport maritime marchand global (EEA, 2000). En plus d'être une source de pollution considérable, il s'agit d'un mode de transport qui contribue significativement à l'introduction d'espèces

animales et végétales invasives, provoquant la perte et/ou l'extinction d'espèces autochtones. Actuellement, 925 espèces d'origine exotique ont été recensées en Méditerranée (PNUE/PAM-Plan Bleu, 2009).

En raison de la circulation et du temps de résidence relativement long de l'eau (entre 80 et 100 ans pour le renouvellement total des masses d'eau), la Méditerranée est particulièrement sensible aux pressions telles que la pollution et l'eutrophisation (Karydis & Kitsiou, 2012). De plus, les populations locales, le tourisme et toutes les autres activités économiques ne font qu'accentuer les rejets d'eaux usées. Certaines zones côtières, principalement dans le nord, montrent des problèmes d'eutrophisation intenses, dont les premiers signes ont été identifiés aux abords des grandes villes dès les années 60 (Karydis & Kitsiou, 2012). Des proliférations d'algues toxiques (ex. : Dinoflagellés) sont généralement récurrentes dans ces zones riches en matières organiques (Marques *et al.*, 2014). Une autre conséquence des rejets d'eaux usées est la pollution microbiologique. Ces phénomènes représentent une menace non seulement pour les écosystèmes mais également pour la santé publique.

### **Développement d'indicateurs**

Avec des phénomènes de pollution dont l'ampleur et l'occurrence sont de plus en plus importantes, l'évaluation de l'état de santé d'une espèce, d'une population, d'une communauté ou encore d'un écosystème devient une préoccupation majeure pour les agences gouvernementales, les organisations non gouvernementales, les scientifiques et dans une moindre mesure le grand public (Burger, 2006). Parallèlement à la quantification directe des polluants présents, il est nécessaire de développer des outils qui permettent d'en mesurer les effets sur les biocénoses. Or, il est impossible de surveiller tous les organismes d'un écosystème donné, il est donc nécessaire de développer et d'employer des « proxys » pouvant fournir des informations sur l'état de cet écosystème (Burger & Gochfeld, 2001, Carignan & Villard, 2002). Ces

indicateurs biologiques sont d'autant plus utiles s'ils sont également pertinents pour la santé humaine (Burger & Gochfeld, 1996, Di Giulio & Monosson, 1996). D'après la définition de Blandin (1986), *un bioindicateur est un organisme, ou un ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées.*

D'après la littérature, les bioindicateurs sont principalement utilisés pour étudier les niveaux de pollution (métaux traces, composés organochlorés, composés azotés, ...), la qualité de l'environnement ou la santé humaine (Burger, 2006). Parmi les organismes identifiés comme étant indicateurs, les plantes sont les plus couramment utilisées, suivies par les invertébrés et les poissons. Inversement, les oiseaux et les mammifères, occupant des niveaux trophiques élevés, sont plus rarement employés (Burger, 2006).

### *Exemples d'organismes indicateurs en milieu marin*

Les algues vertes du genre *Ulva* sp. sont ubiquistes et sont souvent à l'origine de blooms algaux au niveau du milieu marin côtier. Il a été rapporté que ces proliférations importantes étaient directement liées à l'apport en nutriments (azote et phosphore) par les rejets urbains et industriels ainsi que par les ruissellements en provenance des terrains agricoles. En effet, des expériences d'enrichissement en azote et phosphore réalisées dans des zones côtières tropicales et tempérées ont ainsi pu montrer que le taux de croissance des *Ulva* sp. était directement corrélé aux concentrations en azote organique dissous (Teichberg *et al.*, 2010). Il a également été mis en évidence que ces organismes étaient indicateurs de la contamination par les métaux Mn, Fe, Cu, Zn et Pb (par mesure de leur concentration) des eaux côtières de l'île de Hong Kong (Ho, 1990).

Au niveau de la méiofaune, les foraminifères peuvent être employés comme indicateurs des changements environnementaux dans les écosystèmes côtiers, estuariens et lagunaires (Armynot du Châtelet *et al.*, 2004, Frontalini & Coccioni, 2011). En raison de leur petite taille, leur abondance, leur large répartition et leurs cycles de vie et de reproduction courts, ils peuvent répondre rapidement aux perturbations ayant lieu dans l'environnement (Alve, 1995, Balsamo *et al.*, 2012). À titre d'exemples, les espèces d'*Elphidium excavatum*, *Escherichia advena*, *Escherichelloides scabrus* deviennent dominantes au voisinage de l'embouchure d'effluents. Cette prolifération serait liée à l'augmentation des apports en nutriments. Quant aux espèces *Ammonia beccarii* et *Allogromia laticollaris*, leurs taux de croissance et de reproduction sont diminués lors d'une pollution par les hydrocarbures (Alve, 1995).

En raison de leurs importantes capacités de bioaccumulation, les mollusques bivalves sont d'excellents indicateurs de contamination des eaux marines littorales. Dès les années 70, les moules ont été employées dans de vastes programmes de biomonitoring des écosystèmes aquatiques. Les contaminants (éléments traces métalliques, composés organochlorés et hydrocarbures) accumulés au sein des individus sont ensuite directement quantifiés, ce qui permet l'estimation des concentrations biodisponibles au niveau des zones analysées. Dans ce contexte, la réponse biologique aux polluants peut également être étudiée via l'analyse de marqueurs moléculaires et cellulaires (méthallothionéines, lipides peroxydés, micronoyaux, protéines de choc thermique,...) qui renseignent également sur le type de pollution (pour une synthèse, voir Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2003). En tant qu'organismes filtreurs, les moules ont également la capacité d'accumuler les bactéries depuis l'eau de mer environnante. Par conséquent, *Mytilus edulis* a été employée afin d'identifier les sources des pollutions fécales (microbial source tracking) en milieux côtiers (Roslev *et al.*, 2009, Roslev *et al.*, 2010). En effet, une fois ingérées, les bactéries fécales et/ou pathogènes vont être

localisées majoritairement dans l'intestin et la glande digestive. Elles seront par la suite digérées, excrétées sous une forme viable ou y persisteront durant plusieurs jours. Roslev *et al.* (2009) ont pu mettre en évidence que les tissus de *M. edulis* contenaient des concentrations en *Enterococcus faecalis* 30 à 300 fois plus importantes comparativement aux concentrations mesurées dans l'eau de mer.

Les communautés de poissons, plus faciles à observer, ont également été largement employées pour surveiller les écosystèmes aquatiques mais dans le cas d'impacts à plus long terme. Elles réagissent significativement à bon nombre de perturbations d'origine anthropique telles que l'eutrophisation, l'altération de l'habitat et l'introduction d'espèces exotiques (Hartman, 1973, Karr, 1981, Plafkin *et al.*, 1989, Fausch *et al.*, 1990, Li *et al.*, 2010).

Enfin, certaines espèces de bactéries et de Rhodophycées sont indicatrices de milieux environnementaux perturbés.

## **Les bactéries**

### **Généralités**

Les micro-organismes, dont la taille est inférieure à 100  $\mu\text{m}$ , font partie d'un monde invisible à l'œil nu mais peuvent jouer un rôle important dans notre monde visible. Ils comprennent une grande diversité en matière de forme, d'environnement, de métabolisme et de mode trophique.

La définition des micro-organismes s'est, dans un premier temps, basée sur leurs caractéristiques morphologiques relativement simples et sur l'absence de cellules très différenciées et de tissus distincts. Le premier arbre phylogénétique séparant les grands groupes du vivant en trois royaumes (*Plantae*, *Animalia* et *Protista*) apparaît dans la seconde moitié du 19<sup>e</sup> siècle, avec la présence d'un groupe, les Monères, (appartenant

aux *Protista*) qui correspond quelque peu aux micro-organismes procaryotes d'aujourd'hui. Cependant, le premier système de classification des organismes s'appuyant sur la différence entre cellules procaryotes et eucaryotes ne fut proposé qu'au 20<sup>e</sup> siècle. Ce schéma se basait, après le type cellulaire (procaryote ou eucaryote), sur le niveau d'organisation (unicellulaire ou multicellulaire) ainsi que sur le mode de nutrition et classait les organismes en 5 règnes : *Animalia*, *Plantae*, *Monera*, *Protista* et *Fungi*. Les micro-organismes se trouvant dispersés dans les trois derniers (Whittaker, 1969). À la fin du 20<sup>e</sup> siècle, l'avènement des techniques de microscopie électronique, de la caractérisation physiologique et biochimique de certains organismes et de l'analyse comparative des séquences nucléiques et protéiques a initié une nouvelle répartition proposée par Carl Woese. Ce dernier utilisa les séquences du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité du ribosome (16S chez les procaryotes, 18S chez les eucaryotes) afin de classer les organismes vivants en trois domaines : les *Bacteria*, les *Archaea* et les *Eucarya* (Fig. 3)(Woese *et al.*, 1990). Les micro-organismes sont répartis dans les trois domaines du vivant. En outre, l'évolution des techniques de biologie moléculaire a permis de mettre en évidence une relation évolutive, un lien de parenté entre les organismes et d'en explorer la diversité génétique.

Les bactéries sont des organismes procaryotes et se distinguent des eucaryotes principalement par l'absence de certains composants cellulaires tels qu'un noyau, des mitochondries et des chloroplastes. Des différences importantes s'observent également au niveau de leur composition biochimique (Tabl. 1). Ces organismes ont généralement une taille de l'ordre du micron (bien que la bactérie *Thiomargarita namibiensis* puisse atteindre 0,75 mm de long) et présentent une grande diversité physiologique et morphologique (Zinder & Dworkin, 2013) (Fig. 4).

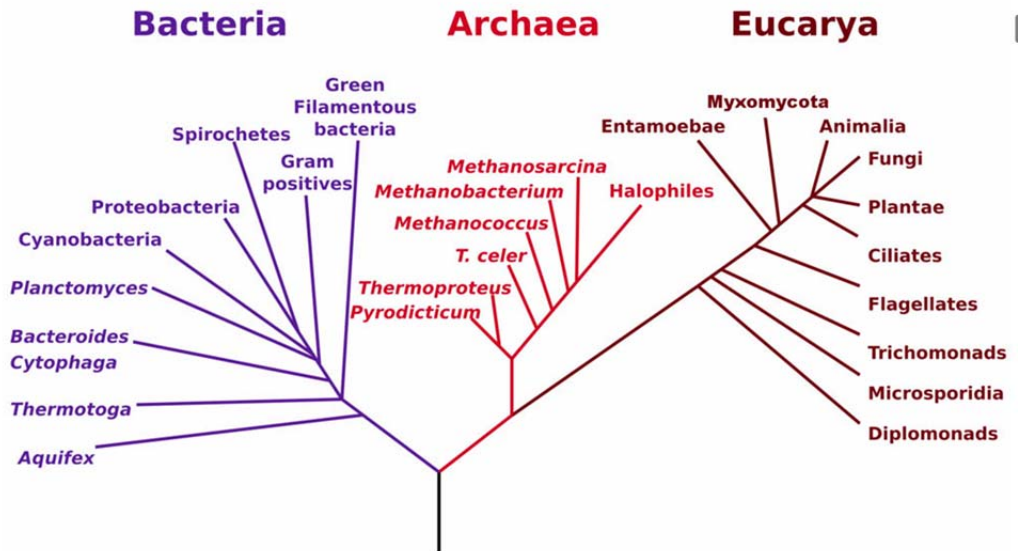
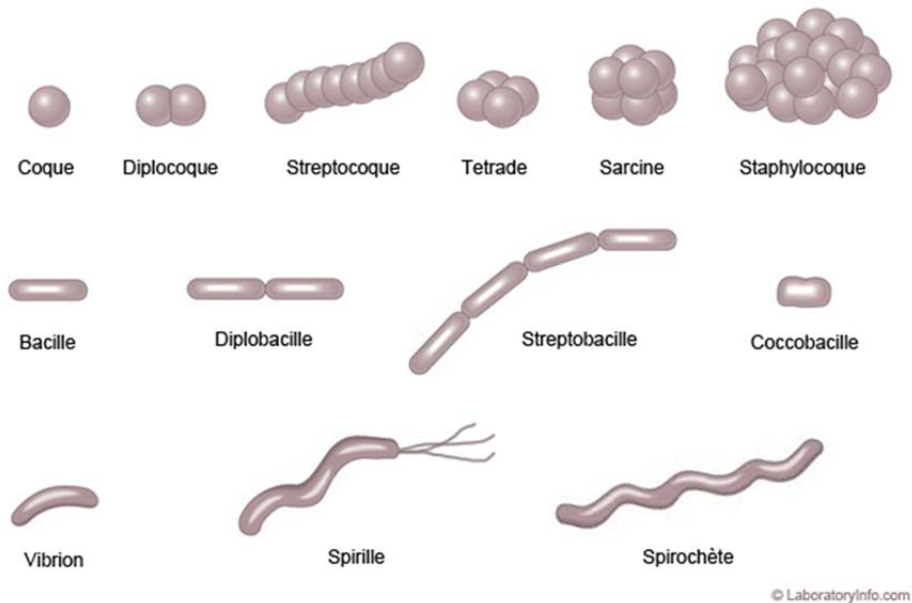


Figure 3 - Arbre phylogénétique du vivant séparant les organismes en trois grands domaines : les *Bacteria*, les *Archaea* et les *Eucarya*. D'après Woese *et al.* (1990) et basé sur la comparaison des ARNr 16S et 18S.

Tableau 1 - Composition biochimique des bactéries à croissance rapide (temps de génération : 1 h ou moins) ou lente (échelle du jour) par rapport aux eucaryotes (Förster *et al.*, 2003, Kirchman, 2012).

Biochemical component	% of Dry Weight		
	Bacteria		Eukaryote
	Fast	Slow	
Protein	55.0	55.0	45.0
RNA	20.0	13.7	6.3
Lipids	9.0	12.0	2.9
Lipopolysaccharides (LPS)	3.4	3.3	0
Cell wall (peptidoglycan or chitin)	2.5	4.1	<1
C Storage (glycogen)	2.5	0.0	8.4
Other polysaccharides	<1	<1	31.5
DNA	3.0	10.0	0.4
Monomers (e.g. sugars, inorganic ions)	4.0	2.1	6
Total	99.4	100.2	100.5

En plus de la membrane cytoplasmique, les bactéries disposent d'une paroi cellulaire dont la composition varie selon le type bactérien. Les bactéries Gram-positives (positives à la coloration de Gram) ont une paroi plus résistante uniquement composée d'une épaisse couche homogène de peptidoglycane (15 – 80 nm). Les bactéries Gram-négatives (négatives à la coloration de Gram) ont une paroi plus complexe constituée d'une couche de peptidoglycane plus fine (2 – 7 nm) située dans l'espace périplasmique et couverte d'une membrane externe d'environ 8 nm contenant des lipopolysaccharides spécifiques de ce groupe bactérien.



**Figure 4 - Diversité morphologique chez les bactéries.** Les bactéries sphériques sont appelées coques et peuvent s'associer en paires, chainettes, tétrades ou encore amas. Les bacilles ressemblent à des bâtonnets et peuvent également former des paires ou des chaînes. Les coccobacilles ont une forme intermédiaire entre les coques et les bacilles. Les vibrions rappellent la forme d'une virgule. Enfin, parmi les bactéries en spirale, on distingue les spirilles qui possèdent une touffe de flagelles à l'une ou aux deux extrémités et les spirochètes qui ont un dispositif flagellaire interne.



## Classification

À chaque fois qu'un objet est découvert et défini, l'homme en fait un classement et les bactéries n'échappent pas à la règle. Elles ont très souvent été répertoriées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques (sphérique, en bâtonnet ou en spirale), de la nature de leur paroi (Gram + et Gram -) et de leur métabolisme. Encore une fois, les progrès en matière de séquençage et de comparaison des ARNr, ADN et protéines ont permis l'établissement d'une classification plus élaborée comme celle publiée dans le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Ce manuel de référence qui traite de la diversité des procaryotes (*Bacteria* et les *Archaea*) dans son ensemble divisait, dans sa deuxième édition, le domaine des bactéries en 23 phylums (Fig. 5).

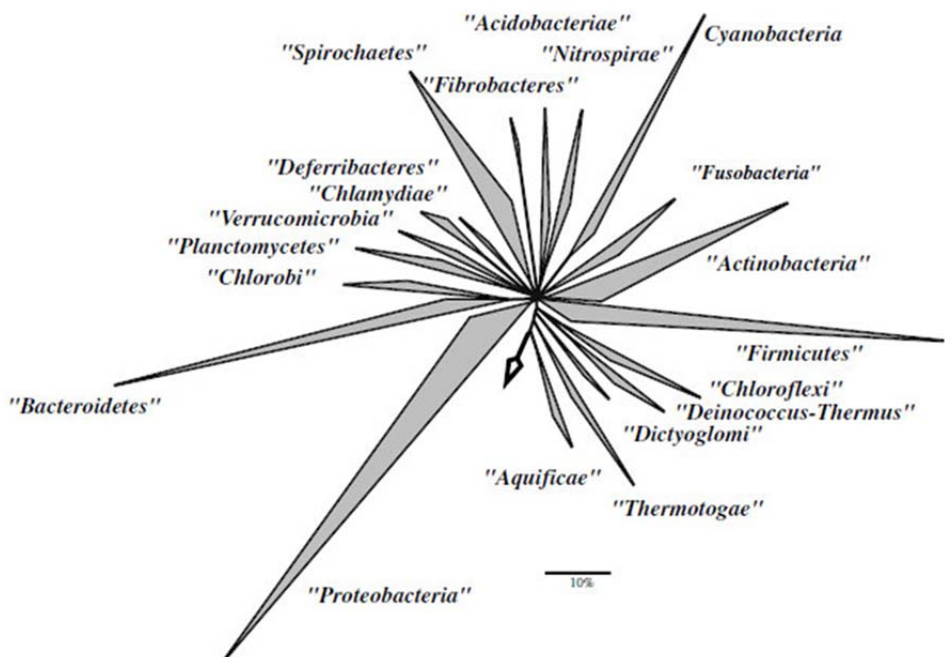


Figure 5 - Arbre basé sur la comparaison des ARNr 16S illustrant les phylums bactériens majeurs d'après Ludwig & Klenk (2001). Seuls les très petits phylums *Chrysiogenetes*, *Gemmatimonadetes* et *Thermodesulfobacteria* ne sont pas représentés. Les triangles regroupent les organismes apparentés, l'angle à la base du groupe indique à peu près le nombre de séquences au sein du phylum et les arêtes partant de la base représentent la branche la plus courte et la branche la plus longue au sein du groupe. Des séquences d'*Archaea* et *Eucarya* ont été utilisées comme « outgroup » pour enraceriner l'arbre (flèche).

Parmi les phylums les plus importants, nous pouvons citer les *Cyanobacteria* qui représentent une lignée majeure des bactéries. Ce sont des bactéries Gram-négatives, unicellulaires, coloniales ou filamenteuses oxygéniques et photosynthétiques. Comme les plantes supérieures, les cyanobactéries réalisent la photosynthèse. Elles possèdent de la chlorophylle-*a* et des phycobilines sont présentes chez presque toutes les espèces. Les genres marins représentatifs de ce phylum sont *Prochlorococcus* et *Synechococcus*. Malgré l'importance des cyanobactéries, leur classification est basée sur des caractères phénotypiques plutôt que phylogénétiques (Garrity *et al.*, 2005).

Les *Proteobacteria* représentent probablement le phylum le plus vaste des bactéries. Ce groupe extrêmement complexe comprend des bactéries Gram-négatives exhibant des morphologies, physiologies et modes de vie très variés. De nombreux genres de ce phylum se sont révélés être d'un grand intérêt pour la médecine, l'industrie et la recherche biologique (ex. : *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Vibrio*, etc.). Selon l'analyse des ARNr, le groupe des protéobactéries est divisé en 5 classes : les *Alphaproteobacteria*, les *Betaproteobacteria*, les *Gammaproteobacteria*, les *Deltaproteobacteria* et les *Epsilonproteobacteria* (Tabl. 2)(Garrity *et al.*, 2005).

Les *Firmicutes* constituent un autre phylum bactérien important. Il regroupe les bactéries Gram-positives qui possèdent un faible taux de bases GC dans leur ADN et qui sont majoritairement hétérotrophes. La diversité morphologique au sein de ce groupe est conséquente. Ce phylum est divisé en trois classes : les *Clostridia*, les *Bacilli* et les *Mollicutes*. Les *Clostridia* comprennent principalement des bactéries anaérobies avec des formes et des tailles diverses. Certains genres, comme *Clostridium* qui représente un des plus grands genres bactériens, produisent des endospores bactériennes. Les *Bacilli* peuvent se présenter sous forme de bâtonnets et de coques et être aérobies ou anaérobies facultatifs. Certains

Tableau 2 - Description succincte des différentes classes de *Proteobacteria* d'après Garrity et al. (2005) dans Sherwood et al. (2010)

Classe	N <sup>bre</sup> d'ordres	Particularités	Genres représentatifs
<b><i>α-proteobacteria</i></b>	7	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Regroupe une grande partie des formes oligotrophes</li> <li>- Inclue des bactéries photosynthétiques</li> <li>- Certains genres possèdent des métabolismes peu communs :               <ul style="list-style-type: none"> <li>o méthylothrophie (ex : <i>Methylobacterium</i>)</li> <li>o chimiolithotrophie (ex : <i>Nitrobacter</i>)</li> <li>o fixation d'azote (ex : <i>Rhizobium</i>)</li> </ul> </li> <li>- Comprend deux pathogènes importants : <i>Rickettsia</i> et <i>Brucella</i>.</li> <li>- Comprend une des bactéries les plus répandues : SAR11</li> <li>- Tendence à consommer des substances diffusant des zones anaérobies, à partir de la décomposition de la matière organique :               <ul style="list-style-type: none"> <li>o l'hydrogène (ex : <i>Alcaligenes</i>)</li> <li>o l'ammoniac (ex : <i>Nitrosomonas</i>)</li> <li>o le méthane (ex : <i>Methylobacillus</i>)</li> <li>o des acides gras volatiles (ex : <i>Burkholderia</i>)</li> </ul> </li> </ul>	<p><i>Rickettsia</i> <i>Erythrobacter</i> <i>Ruegeria</i></p>
<b><i>β-proteobacteria</i></b>	7	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Groupe vaste et complexe</li> <li>- Un grand nombre est chimio-organotrophe, anaérobie facultatif et pratique la fermentation.</li> <li>- Une grande diversité de métabolismes énergétiques :               <ul style="list-style-type: none"> <li>o les voies d'Embden-Meyerhof et des pentoses phosphate comme chez les <i>Enterobacteriaceae</i></li> <li>o chez les <i>Pseudomonadaceae</i></li> </ul> </li> <li>o la photosynthèse comme chez <i>Chromatium</i></li> <li>o certains sont méthylothrophes (ex : <i>Methylococcus</i>)</li> <li>o d'autres oxydent le soufre (ex : <i>Beggiatoa</i>)</li> </ul>	<p><i>Burkholderia</i> <i>Comamonas</i></p>
<b><i>γ-proteobacteria</i></b>	14	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inclue des bactéries prédatrices d'autres bactéries (ex. : <i>Bdellovibrio</i>)</li> <li>- Contient les mycobactéries fructifiantes comme <i>Myxococcus</i></li> <li>- Comprend des anaérobies produisant du sulfure à partir de sulfate et de soufre (ex. : <i>Desulfovibrio</i>)</li> <li>- Contient deux pathogènes importants : <i>Campylobacter</i> et <i>Helicobacter</i>.</li> </ul>	<p><i>Pseudomonas</i> <i>Halomonas</i> <i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i></p>
<b><i>δ-proteobacteria</i></b>	8	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contient les mycobactéries fructifiantes comme <i>Myxococcus</i></li> <li>- Comprend des anaérobies produisant du sulfure à partir de sulfate et de soufre (ex. : <i>Desulfovibrio</i>)</li> <li>- Contient deux pathogènes importants : <i>Campylobacter</i> et <i>Helicobacter</i>.</li> </ul>	<p><i>Bdellovibrio</i> <i>Myxococcus</i></p>
<b><i>ε-proteobacteria</i></b>	1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contient deux pathogènes importants : <i>Campylobacter</i> et <i>Helicobacter</i>.</li> </ul>	<p><i>Campylobacter</i> <i>Arcobacter</i></p>

de leurs genres peuvent également former des endospores. De nombreux membres, comme *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*, se sont révélés être d'une grande utilité en médecine et dans l'industrie. Enfin, les *Mollicutes*, plus souvent appelés mycoplasmes, ne possèdent pas de paroi cellulaire et peuvent prendre diverses formes. Ils sont dits pléïomorphes. Cette classe compte également de nombreux pathogènes d'animaux et de végétaux parmi les genres *Mycoplasma* et *Spiroplasma*. Toutefois, la classification des *Mollicutes* au sein des *Firmicutes* a été fortement discutée et ils ont été élevés au rang de phylum pour devenir les *Tenericutes*. Depuis, une autre classe a fait son apparition chez les *Firmicutes*, il s'agit des *Erysipelotricha* qui regroupent des bactéries en forme de bâtonnets, non mobiles, qui ne forment pas d'endospores. Le genre représentatif est *Erysipelothrix* (Schleifer, 2009).

Le phylum des *Actinobacteria* rassemble quant à lui les bactéries Gram-positives riches en GC. Ce phylum compte cinq classes et fait preuve d'une grande diversité au niveau morphologique allant de la simple coque aux filaments hautement différenciés (ex. : les actinomycètes). Selon leurs propriétés phénotypiques, les *Actinobacteria* peuvent être divisées en deux groupes : celui des bactéries unicellulaires non-sporulantes et celui des filamenteuses sporulantes. Il y a également de nombreuses fluctuations au niveau de la composition de la paroi cellulaire (ex. : nature des peptidoglycanes, présence d'acides mycoliques). Les membres de ce phylum sont largement répandus dans les environnements aquatiques et terrestres. Parmi les genres représentatifs des *Actinobacteria*, nous retrouvons *Actinomyces*, *Mycobacterium*, *Bifidobacterium*, *Arthrobacter* et *Streptomyces* qui compte pas loin de 150 espèces (Goodfellow, 2012).

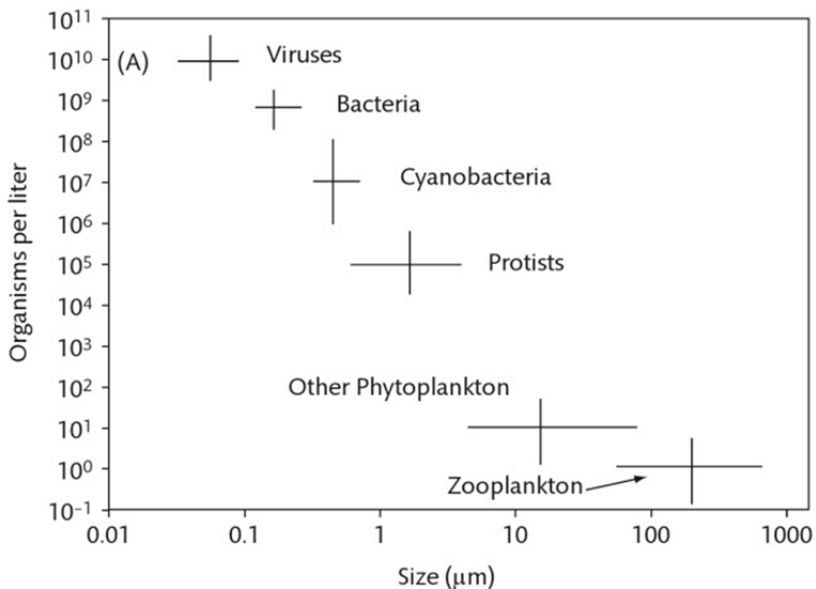
Les *Bacteroides*, à l'instar des autres phylums, est un groupe présentant une grande diversité phénotypique rassemblant des bactéries Gram-négatives ne formant pas d'endospores et principalement anaérobies. Ce phylum est divisé en quatre classes et les genres les plus

connus sont *Cytophaga*, *Flavobacterium* et *Bacteroides* qui est notamment l'un des plus étudiés (Krieg *et al.*, 2010).

## Les bactéries dans l'environnement marin

Le domaine des *Bacteria* est un ensemble extrêmement varié et son importance dans les océans avait déjà été établie lors des premiers travaux impliquant des méthodes de culture (ZoBell, 1946), mais était restée largement sous-estimée. En 2002, Curtis *et al.* ont évalué que le nombre d'espèces de bactéries dans le milieu marin s'élevait à plus de 2 millions. En raison de leur petite taille, leur densité à la surface des océans peut atteindre des centaines de millions de cellules par litre, pour les zones les moins riches et jusqu'à plusieurs milliards de cellules dans les zones les plus riches en nutriments (Fig. 6)(Cho & Azam, 1990, Ducklow & Shiah, 1993, Kirchman, 2012).

Cependant, malgré leur abondance, seulement 1% des bactéries



**Figure 6 - Distribution des micro-organismes et organismes en fonction de leur taille en milieu aquatique (Kirchman, 2012).** Nous pouvons visualiser que plus un organisme est de petite taille, plus il sera abondant.

est détectable à l'aide des méthodes de culture traditionnelles (Kennedy et al., 2010). Différentes raisons peuvent expliquer ce phénomène : (1) toutes les bactéries ne forment pas des colonies, (2) les milieux de culture favorisent les bactéries abondantes, aérobies et moins exigeantes sur les conditions de leur croissance (pH, température et disponibilité en nutriments) (Hiergeist *et al.*, 2015), (3) la formation de colonies est un processus actif qui nécessite que des composants d'adhésion soient synthétisés, que les flagelles soient inactivés ou disparaissent, etc. (Fuhrman & Hagström, 2008) et, enfin (4) certaines cellules peuvent entrer dans un état physiologique de « dormance » où elles conservent leur viabilité et leur activité mais ne peuvent plus se multiplier sur milieu de culture conventionnel, il s'agit donc de cellules viables mais non cultivables (VBNC) (Oliver, 2000). En plus, ces techniques demandent énormément de temps et de manipulations. Depuis les années 80, l'émergence de techniques moléculaires indépendantes des méthodes de culture comme celles basées sur le clonage, l'analyse des gènes codant pour l'ARN ribosomique, la PCR (Polymerase Chain Reaction), le FISH (Fluorescent *in situ* hybridization) et plus récemment, le séquençage de nouvelle génération (ex : le pyroséquençage 454), nous a permis d'en connaître davantage sur la diversité et la composition bactérienne dans les biomes marins (Azam & Worden, 2004, DeLong & Karl, 2005, Zeng *et al.*, 2014). Le pyroséquençage, notamment, permet d'analyser rapidement un ensemble de séquences nettement plus important que ce qui est possible avec les techniques nécessitant des étapes de culture (Na *et al.*, 2011). L'avènement de toutes ces techniques rend la description de la structure de la communauté bactérienne plus aisée et constitue une avancée essentielle pour la compréhension du rôle des bactéries dans le fonctionnement des écosystèmes marins (Cottrell & Kirchman, 2000, Giovannoni & Rappé, 2000). En revanche, les cultures en laboratoire restent la meilleure approche pour détecter certaines espèces bactériennes et pour étudier leurs caractéristiques physiologiques et métaboliques (Na *et al.*, 2011, Zeng *et al.*, 2012).

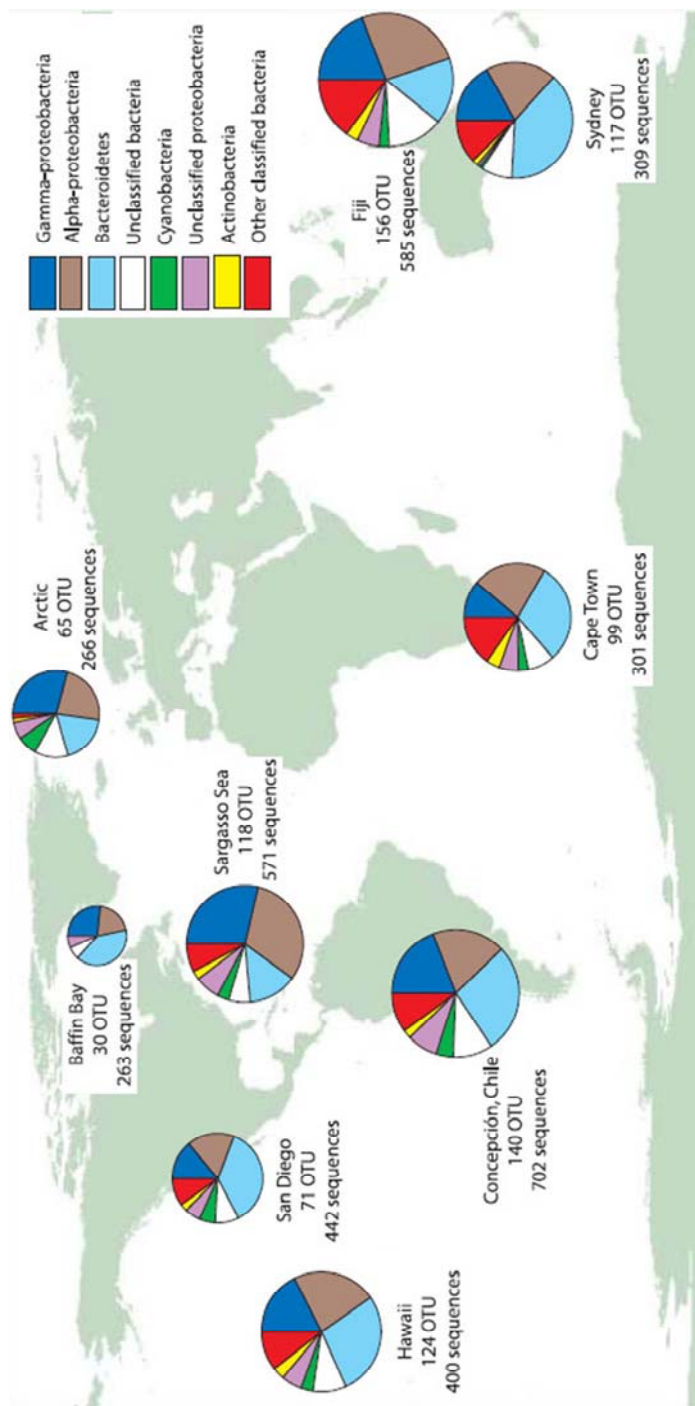
## *Distribution et composition des communautés*

Les bactéries ont la capacité de s'adapter à une grande variété d'environnements avec des conditions de pH, de salinité, de pression et de température pouvant être extrêmes, telles qu'au niveau des cheminées hydrothermales (Rogers *et al.*, 2012) ou encore de la mer glacée de l'Arctique (Zeng *et al.*, 2013). Les océans offrent une pléthore d'habitats pour les micro-organismes qui peuvent être, en outre, simplement en suspension dans l'eau, associés à d'autres particules, dans le sédiment, adsorbés à la surface d'organismes ou d'objets inanimés, ou encore en symbiose avec d'autres organismes (Munn, 2005). En 1934, le microbiologiste Lourens Baas Becking formulait déjà l'hypothèse « tout est partout, l'environnement sélectionne » (Baas-Becking, 1934). Cependant, des études ont mis en évidence que seulement quelques espèces bactériennes pouvaient être cosmopolites et très abondantes (Pommier *et al.*, 2007, Yooseph *et al.*, 2010, Zinger *et al.*, 2011), la plupart d'entre elles ne sont présentes qu'en très faible nombre et font partie de ce qui est appelé la « biosphère rare » (Pedrós-Alió, 2012). Par conséquent, la majorité des espèces, y compris les espèces clés impliquées dans les processus biogéochimiques ou réalisant des fonctions indispensables pour la communauté, reste alors inconnue. Certains auteurs ont également suggéré ou ont déjà évoqué l'occurrence d'endémisme au sein des communautés bactériennes marines (Fulthorpe *et al.*, 1998, Cho & Tiedje, 2000, Pommier *et al.*, 2007, Fulthorpe *et al.*, 2008). Par ailleurs, des études montrent que la composition des communautés bactériennes marines est liée aux facteurs environnementaux tels que la profondeur de la colonne d'eau (DeLong *et al.*, 2006), la température et la latitude (Pommier *et al.*, 2007, Fuhrman *et al.*, 2008), la différence de masses d'eau (Galand *et al.*, 2009, Agogué *et al.*, 2011), mais également aux conditions environnementales historiques (isolement par la distance, barrière géographique) (Ramette & Tiedje, 2007).

Récemment, de grandes campagnes d'échantillonnage ont permis d'explorer les tréfonds de la diversité microbienne dans l'océan mondial : le séquençage du métagénome de la mer des Sargasses (Venter *et al.*, 2004), le projet GOS (« Global Ocean Sampling ») du nord-ouest de l'Atlantique jusqu'à l'est du Pacifique tropical (Rusch *et al.*, 2007, Yooseph *et al.*, 2007), L'ICoMM (« International census of Marine Microbes ») (Amaral-Zettler *et al.*, 2010, Zinger *et al.*, 2011) et le consortium TARA oceans (Sunagawa *et al.*, 2015) dans tous les océans. Nous pouvons également citer l'étude réalisée par Pommier *et al.* (2007) à neuf endroits différents dans le monde, avec un échantillonnage simultané, dans le but d'analyser la composition et la richesse spécifique des communautés de bactérioplancton (Fig. 7).

Le milieu marin abrite des groupes bactériens nettement différents de ceux que nous pouvons trouver dans les habitats terrestres ou d'eau douce. Certains sont présents sans interruption dans les océans alors que d'autres n'apparaissent que ponctuellement, à un endroit ou une saison donnée (Fig. 8 p23). Globalement, les communautés bactériennes marines sont dominées par les *Alphaproteobacteria*, les *Gammaproteobacteria* et les *Bacteroidetes* (Pommier *et al.*, 2007, Zinger *et al.*, 2011, Sunagawa *et al.*, 2015). Cependant, les tendances peuvent être différentes s'il s'agit de communautés bactériennes benthiques ou pélagiques. Les échantillons pélagiques semblent être majoritairement composés de séquences de *Gammaproteobacteria*, d'*Alphaproteobacteria* (principalement SAR11), de *Flavobacteria* (appartenant aux *Bacteroidetes*) et de *Cyanobacteria* alors que dans les échantillons benthiques, il y aurait surtout des séquences de *Gammaproteobacteria*, de *Deltaproteobacteria* et dans une moindre mesure d'*Actinobacteria*, de *Flavobacteria* et de *Betaproteobacteria* (Zinger *et al.*, 2011).



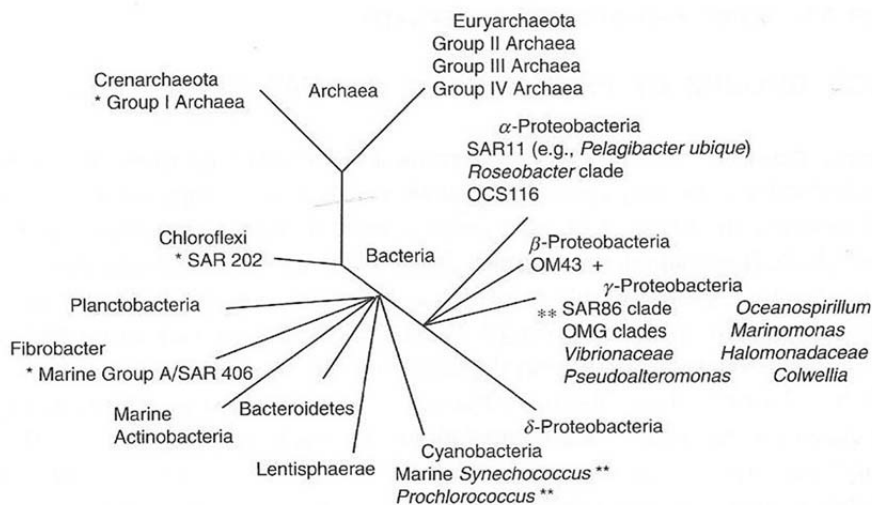


**Figure 7 – Échantillonnage global des communautés de bactérioplancton marin.** Neuf endroits dans le monde ont été échantillonnés à 5 mètres de profondeur. Le nombre d'OTU et de séquences clonées est indiqué à côté des camemberts représentant la distribution des groupes taxonomiques majeurs. La taille des camemberts est proportionnelle au nombre d'OTU échantillonnés à chaque site (Pommier *et al.*, 2007).

Le phylum des *Proteobacteria* est très répandu dans les océans. Le groupe le plus abondant est celui des *Alphaproteobacteria* dont SAR11, ou *Pelagibacter ubique*, qui est considéré comme le genre dominant dans de nombreux écosystèmes marins, y compris en mer Méditerranée (Rappé *et al.*, 2002, Alonso-Sáez *et al.*, 2007, Giovannoni & Vergin, 2012, Kirchman, 2012). Il s'agit du premier grand groupe de bactéries marines identifié à l'aide des techniques de clonage et de séquençage des gènes codant pour l'ARNr (Giovannoni *et al.*, 1990). Ces organismes perçus comme oligotrophes présentent certaines caractéristiques pouvant être liées à une adaptation à la vie en milieu pauvre en éléments nutritifs. Ils ont une petite taille et donc un meilleur rapport surface-volume, un génome de taille réduite avec une disparition des gènes superflus et un métabolisme relativement simple. Bien que décrit comme ubiquiste, SAR11 présente de nombreux sous-clades dont la répartition géographique varie de manière significative (Field *et al.*, 1997). Les *Roseobacter*, appartenant aux *Rhodobacterales*, constituent un autre groupe d'*Alphaproteobacteria* largement répandu dans l'environnement marin. Avec de nombreux représentants isolés par culture, les membres de ce groupe peuvent compter pour environ 20% de la communauté bactérienne des eaux côtières, pour environ 15% au niveau de la couche d'eau mélangée et pour moins de 1% en dessous d'une centaine de mètres de profondeur (Buchan *et al.*, 2005). Il existe de nombreux genres de *Gammaproteobacteria* marine tels que *Vibrio*, *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas* et *Shewanella*. Elles possèdent des taux de croissance très rapides ce qui explique certainement la facilité à les cultiver mais aussi leur abondance et leur adaptation à des milieux avec des apports irréguliers en nutriments, en d'autres termes leur succès écologique (Giovannoni & Rappé, 2000, Fuhrman & Hagström, 2008). Les *Betaproteobacteria* marines sont peu connues, car cette classe est plutôt caractéristique des eaux douces (Glockner *et al.*, 2000, Kirchman, 2012). Toutefois, elles sont présentes en milieu marin avec une répartition qui semble se limiter à l'environnement côtier (Rappé *et al.*, 2000).

Nous pouvons également noter la présence de bactéries appartenant à l'embranchement des *Bacteroidetes* qui constitue une part importante du bactérioplancton marin (Fuhrman & Hagström, 2008, Kirchman, 2012). Les Bacteroidetes sont, notamment, définies comme le troisième phylum le plus important au niveau côtier (Pommier *et al.*, 2007). Elles participent à la dégradation de la matière organique et ont été identifiées à plusieurs reprises lors d'efflorescences algales (Riemann *et al.*, 2000).

Enfin, les *Cyanobacteria* sont d'autres bactéries abondantes dans les océans. Ce phylum présente une répartition ubiquiste au niveau de l'océan mondial. *Prochlorococcus* est le genre dominant avec des densités de l'ordre de  $10^5$  cell. mL<sup>-1</sup> dans les eaux chaudes oligotrophes (Partensky *et al.*, 1999) alors que *Synechococcus* est typiquement plus abondant dans les environnements plus riches en nutriments (Fuhrman & Hagström, 2008). De par leur capacité à réaliser la photosynthèse, les Cyanobacteria participent à la production primaire et jouent un rôle important dans les cycles biogéochimiques.



**Figure 8 – Représentation phylogénétique des clades majeurs d'Archaea et Bacteria marines.** Les groupes avec un seul astérisque sont principalement présents dans les eaux de surface et mésopélagiques durant les hivers polaires, ceux avec deux astérisques proviennent principalement de la zone photique, et ceux avec un + sont principalement côtiers (Fuhrman & Hagström, 2008).

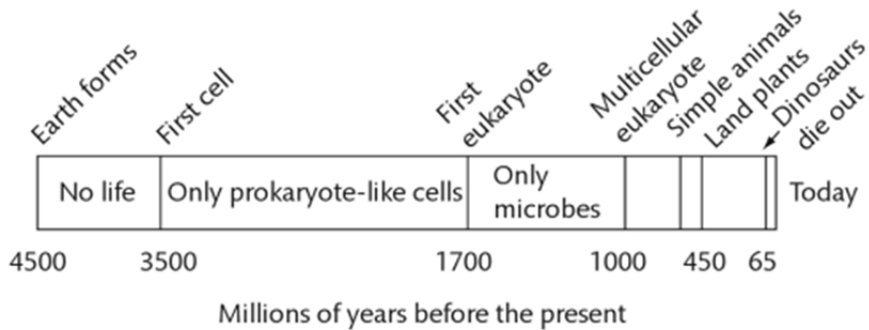
## *Brève description de la composition du bactérioplancton en mer Méditerranée*

Dans le nord-ouest de la Méditerranée, Alonso-Sáez et al. (2007) ont mis en évidence une saisonnalité dans la composition de la communauté bactérienne. Les *Alphaproteobacteria* sont présentes toute l'année mais le clade SAR11 est relativement abondant au printemps et en été et les *Roseobacter* en hiver et au printemps. Les *Gammaproteobacteria* présentent, quant à elles, une densité de population maximale au cours de l'été alors que le nombre de *Bacteroidetes* reste relativement constant tout au long de l'année. Cependant, une étude récente a montré que les *Bacteroidetes* pouvaient afficher un caractère saisonnier marqué avec un maximum de densité au printemps et un minimum en hiver (Díez-Vives et al., 2014). Dans l'est de la Méditerranée qui est une des régions les plus oligotrophes du globe, nous retrouvons également les *Alphaproteobacteria* et les *Gammaproteobacteria* mais aussi une proportion plus importante de *Cyanobacteria* (Feingersch et al., 2010).

### *Rôles au sein de l'écosystème*

Les micro-organismes dans leur globalité sont essentiels à la vie sur terre. Comme mentionné précédemment, les micro-organismes, et plus particulièrement les bactéries, sont capables de vivre dans une grande variété de milieux, y compris les plus extrêmes où les macro-organismes sont peu ou pas présents. Cette « résistance » leur a permis d'être parmi les premières créatures à peupler la terre il y a plus de trois milliards d'années (Kirchman, 2012)(Fig. 9). Le rôle le plus important des bactéries est leurs implications dans les processus biogéochimiques (Azam & Worden, 2004, Falkowski *et al.*, 2008). En effet, leur métabolisme leur permet de transformer les composés contenant du carbone (C), de l'azote (N), du phosphore (P) ou du soufre afin de les rendre disponibles pour les

niveaux trophiques supérieurs (Velimirov & Walenta-Simon, 1992, Chin-Leo & Evans, 2007, Christian & Lind, 2007).



**Figure 9 - Apparition des différentes formes de vie sur Terre.** Durant une majeure partie de cette histoire, seules les cellules procaryotiques étaient présentes, les premiers eucaryotes n'apparaissant que 1,7 milliard d'années avant notre ère. Les procaryotes désignent les bactéries et les archées d'après Rasmussen *et al.* (2008), Payne *et al.* (2009), Czaja (2010), Humphreys *et al.* (2010) dans Kirchman (2012).

Le carbone entre dans les océans, son réservoir le plus important, par la dissolution du CO<sub>2</sub> atmosphérique. Il est alors fixé par les organismes photosynthétiques comme le phytoplancton, les algues, les cyanobactéries ou encore les micro-organismes photohétérotrophes tels que les *Bacteroidetes* et il est ensuite libéré sous forme de carbone organique (Fuhrman & Hagström, 2008). Le carbone est transféré le long de la chaîne trophique après métabolisation par les bactéries hétérotrophes. Une part de ce carbone plonge vers le fond des océans par sédimentation des pelotes fécales, des organismes morts et d'autres déchets où il est piégé durant des périodes à l'échelle des temps géologique. Une autre partie retourne vers l'atmosphère par la respiration des organismes des différents niveaux trophiques (Fig. 10).

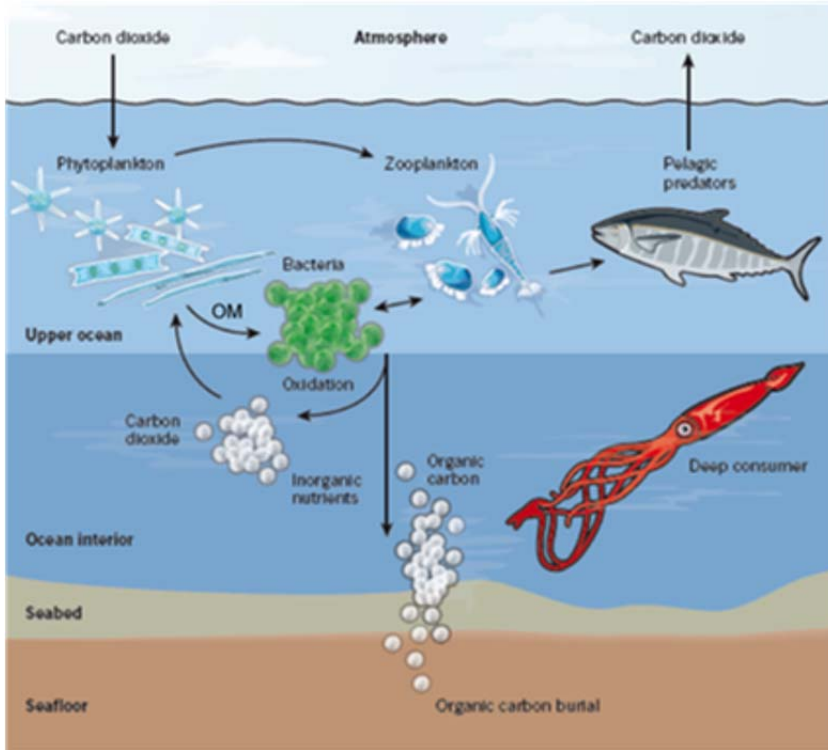


Figure 10 – Représentation schématique du cycle du carbone dans les océans (Falkowski, 2012).

L'azote est un élément très important pour la croissance des micro-organismes et il est disponible sous différentes formes dans l'environnement. La forme la plus répandue est le diazote (N<sub>2</sub>) mais peu d'organismes sont capables de le fixer, par conséquent, les formes les plus utilisées sont l'ammonium, le nitrate et les acides aminés (Kirchman, 2012). L'azote entre donc dans les océans par précipitation ou grâce à la fixation par les organismes diazotrophes et est libéré sous forme d'ammonium. Ce dernier est alors oxydé en nitrite puis en nitrate grâce à l'action d'autres micro-organismes. Ces composés peuvent être, ensuite, convertis en diazote par un processus de dénitrification et retourner vers l'atmosphère. Ils peuvent également être consommés par le phytoplancton et d'autres végétaux aquatiques avant de transiter par les

différents niveaux de la chaîne trophique et d'être réduits en ammonium. Les bactéries jouent un rôle prépondérant dans toutes les étapes du cycle de l'azote (Glöckner *et al.*, 2012)(Fig. 11).

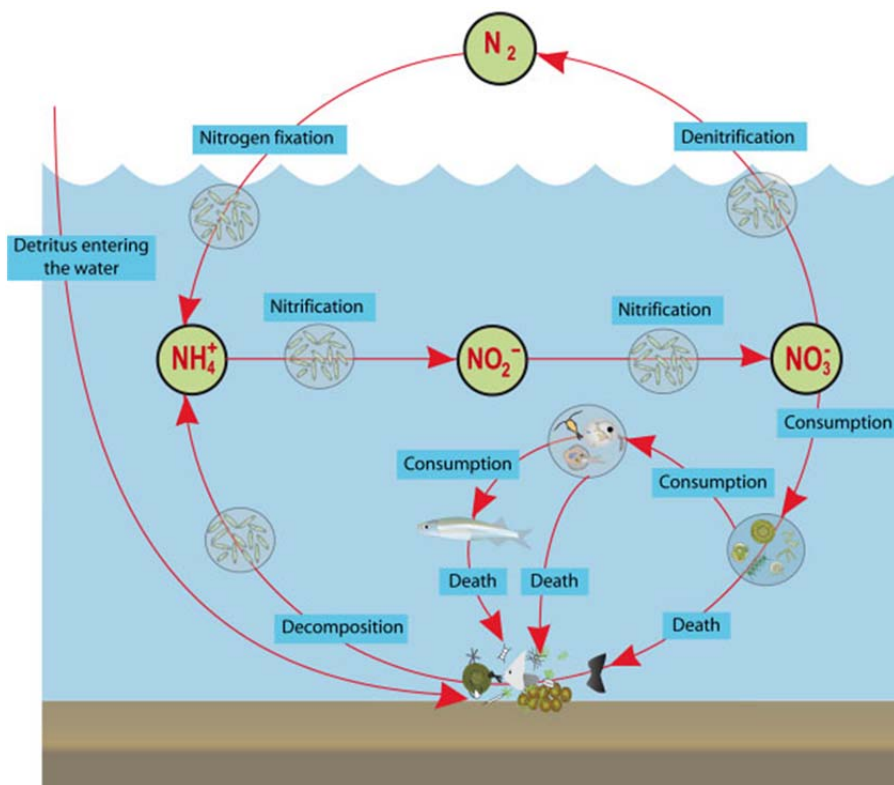


Figure 11 - Représentation schématique du cycle de l'azote dans les océans (© Department of Environment and Heritage Protection, Queensland Government).

Le phosphore, bien que souvent limitant, est un composant important des acides nucléiques (ADN, ARN) et constitue donc un autre nutriment essentiel pour les micro-organismes. Dans l'environnement, il est principalement présent sous forme d'orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Il est absorbé par les bactéries et le phytoplancton (affinité élevée pour la fraction 0,6-2  $\mu\text{m}$ ) qui sont, ensuite, consommés par le zooplancton et les organismes de plus grande taille (Glöckner *et al.*, 2012). Dans des conditions oligotrophes, où le phosphate est peu disponible, la

compétition entre les bactéries et le picophytoplancton est accentuée (Moutin, 2000). Ce cycle est relativement lent, car les phosphates se retrouvent le plus souvent piégés dans les sédiments (Glöckner *et al.*, 2012) (Fig. 12).

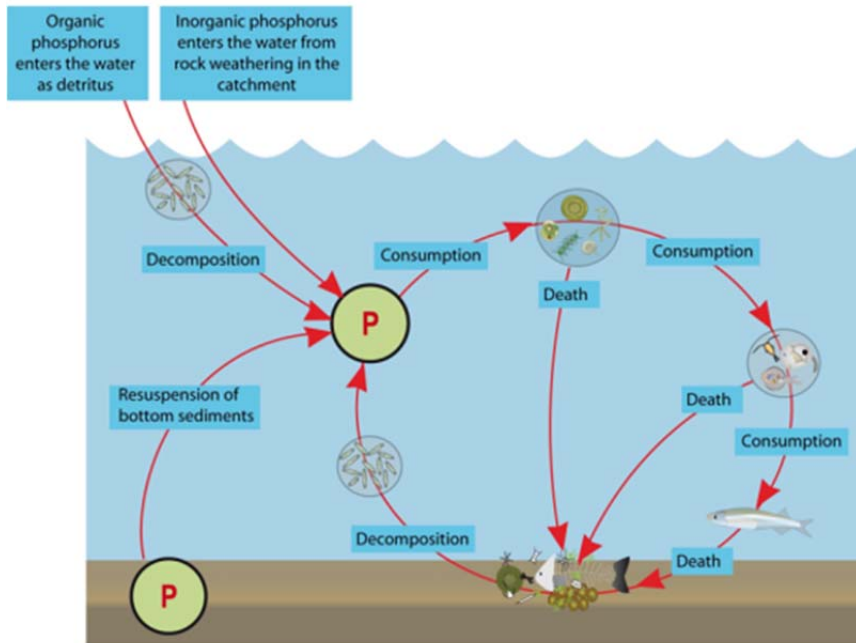


Figure 12 - Représentation schématique du cycle du phosphore dans les océans (© Department of Environment and Heritage Protection, Queensland Government).

Les cycles des nutriments sont directement reliés à la chaîne alimentaire. Dans les océans, la communauté microbienne est à la base de la chaîne trophique et les stocks de poissons dépendent en grande partie de son bon fonctionnement (Kirchman, 2012). En particulier dans les systèmes oligotrophes, la majorité de la production primaire est excrétée sous forme de matière organique dissoute (DOM) par le picophytoplancton (dominant dans ces conditions) et le phytoplancton. La DOM est alors transformée en biomasse vivante par les bactéries hétérotrophes qui l'utilisent pour leur croissance (Dubinsky & Berman-



Frank, 2001). Celles-ci sont consommées par les protozoaires lesquels sont consommés par le zooplancton et ensuite par les poissons. En parallèle, le picophytoplancton est ingéré par les protozoaires et suit le même parcours jusqu'aux niveaux trophiques supérieurs (Fig. 13). Avec cette intervention de la boucle microbienne, il y a donc plus de niveaux trophiques dans un système oligotrophe par rapport à un système eutrophe (De Wever, 2006).

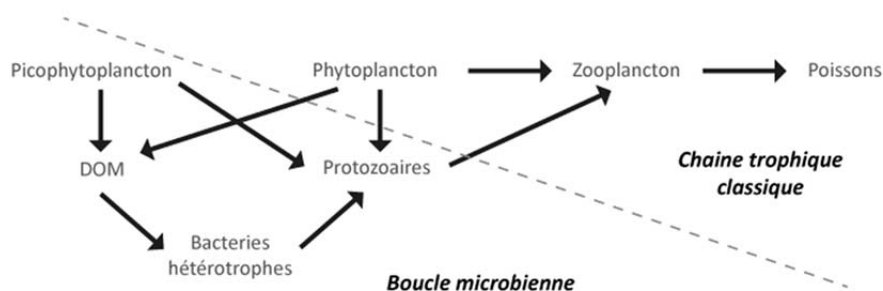


Figure 13 – Réseau trophique pélagique reprenant la chaîne trophique classique et la boucle microbienne.

En dehors de l'environnement marin, les bactéries sont également impliquées dans la production de viande et de produits laitiers. Le tube digestif des ruminants (terrestres ou aquatiques) abrite une communauté bactérienne complexe qui leur permet de digérer les polysaccharides contenus dans l'herbe qu'ils consomment (Olsen *et al.*, 1994, Clements *et al.*, 2009, Kirchman, 2012). Dans notre industrie, elles sont notamment utilisées dans la fabrication des yaourts, du fromage et du vin. En raison de leur croissance rapide et de leur manipulation relativement aisée, elles peuvent également être utilisées comme modèle de laboratoire dans le cas d'études biochimiques, physiologiques et de biologie moléculaire (Kirchman, 2012). Enfin, les bactéries remplissent de nombreuses fonctions pour notre société et notre environnement. Elles participent à la détoxification de polluants comme, par exemple, en dégradant le DDT (Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane) en composés moins toxiques pour la

santé humaine (Alexander, 1999). Elles sont utiles au traitement des eaux usées et contribuent à la consommation du dioxyde de carbone qui est émis dans l'atmosphère.

## **Bactéries pathogènes et intérêt des bactéries fécales**

Seules quelques espèces de bactéries sont pathogènes pour l'homme (Sherwood *et al.*, 2010). Toutefois, depuis l'avènement des techniques ciblant les gènes codant pour l'ARN ribosomique 16S, un nombre impressionnant de ces pathogènes a été signalé dans l'environnement marin (Thompson *et al.*, 2005). Une grande proportion de ces bactéries appartient aux *Gammaproteobacteria*, comme les *Shewanella* et les *Vibrio* dont 11 espèces sont reconnues pathogènes chez l'homme (ex: *Vibrio cholerae*, bactérie responsable du choléra) (Dominguez *et al.*, 1996, CDC, 1999, Iwata *et al.*, 1999, Lipp *et al.*, 2002, Pagani *et al.*, 2003, Thompson *et al.*, 2005). Cette observation contraste avec l'environnement terrestre où les bactéries pathogènes sont souvent classées parmi les *Alphaproteobacteria* et les Spirochètes (Thompson *et al.*, 2005). Nous retrouvons également de nombreuses Gram-positives telles que les bactéries des genres *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Listeria* (Huss, 1980, Colburn *et al.*, 1990, Saubolle *et al.*, 1996, Dobos *et al.*, 1999, Thompson *et al.*, 2005). Si certains de ces pathogènes sont des organismes marins indigènes, d'autres sont introduits dans le milieu marin, dans la plupart des cas, par le biais des activités humaines (Munn, 2005) et/ou sont d'origine fécale (Savichtcheva & Okabe, 2006). Une grande proportion des infections bactériennes contractées par l'homme a d'ailleurs été associée à l'utilisation commerciale des ressources marines et dans le cadre d'activités récréatives (Tamplin, 2001).

## *Risques sanitaires*

Que les organismes pathogènes soient indigènes ou introduits dans le milieu marin, ceux-ci peuvent avoir des impacts plus ou moins graves sur la santé humaine. Les maladies liées à la qualité de l'eau sont à la base de la majorité des cas de morbidité et de mortalité dans le monde, plus particulièrement dans les pays en voie de développement (WHO, 2004). La baignade dans des eaux côtières sous l'influence d'une contamination fécale cause environ 120 millions de maladies gastro-intestinales et 50 millions de troubles respiratoires chaque année (Shuval, 2003). Ce nombre tend à augmenter ces dernières décennies en raison, sans doute, de l'émergence de nouveaux pathogènes, de la multiplication des activités aquatiques et également d'un meilleur compte rendu sur la survenue des maladies thalassogéniques (Dziuban *et al.*, 2006). La voie la plus courante d'exposition aux pathogènes est la consommation de produits de la mer mais il existe d'autres voies, telles que le contact direct, l'exposition aux aérosols marins et aux zoonoses (Thompson *et al.*, 2005). Les poissons et les fruits de mer peuvent contenir des pathogènes, ou leurs toxines, et infecter l'homme lors de leur ingestion, provoquant des symptômes allant de la gastro-entérite aux infections invasives aux conséquences potentiellement fatales (Munn, 2005, Thompson *et al.*, 2005). Il est également bien connu que les organismes filtreurs sont capables, de par leur mode d'alimentation, de concentrer de grandes quantités de polluants et de pathogènes. Les infections gastro-intestinales chez les nageurs sont également causées par l'ingestion accidentelle d'eau de mer. De plus, les baigneurs développeraient plus couramment des infections de la peau, des yeux et des conduits auditifs, suite à des contacts directs avec de l'eau de mer contaminée (Fleisher *et al.*, 1998, Thompson *et al.*, 2005, Sinigalliano *et al.*, 2010). Une autre route éventuelle d'infections bactériennes est la transmission par les aérosols marins générés au niveau des côtes sous l'action des vagues (Thompson *et al.*, 2005). Ce mode de transmission est notamment important dans le cas

des bactéries responsables de la maladie du légionnaire (McDade *et al.*, 1977) et de pneumonies (Fliermans *et al.*, 1981, Ortiz-Roque & Hazen, 1987, Ender & Dolan, 1997). Les zoonoses peuvent également s'avérer être une source de contamination (Munn, 2005). Ces maladies d'origine animale peuvent être occasionnellement transmises à l'homme. La tuberculose et la brucellose sont des infections attribuables à des mammifères marins comme les dauphins et les phoques (Thompson *et al.*, 1993, Foster *et al.*, 2002). La contamination peut également avoir lieu lors de blessures infligées lors d'un contact avec des animaux (morsures, mécanismes de défense).

Les conséquences d'une contamination des eaux de baignade par des pathogènes peuvent avoir des répercussions économiques et sociales. En effet, la détection de pathogènes dans le milieu marin côtier peut amener à la fermeture des plages concernées avec un arrêt momentané des activités et engendrer une diminution de l'affluence touristique. Dans une autre mesure, ces événements engendrent des frais médicaux pour les personnes infectées. Enfin, des stocks importants de nourriture sont amenés à être détruits lorsqu'ils sont issus de zones contaminées comme cela peut être le cas pour les fermes aquacoles (moules, huîtres, ...).

Cependant, les bactéries pathogènes sont présentes en très faibles quantités dans le milieu naturel et leur détection ainsi que leur quantification nécessitent un travail fastidieux qui est difficile à réaliser dans la plupart des cas. De ce fait, les analyses effectuées dans le cadre de la surveillance de la qualité des eaux sont basées sur l'utilisation d'organismes indicateurs partageant le même habitat que les pathogènes (Savichtcheva & Okabe, 2006).

### *Les bactéries fécales indicatrices*

De manière générale, les indicateurs fécaux idéaux doivent répondre à différents critères. Ils doivent être (1) présents dans les fèces

d'origine humaine et/ou animale, (2) incapables de se multiplier en dehors du tractus intestinal, (3) aussi résistants que les pathogènes aux conditions environnementales, (4) corrélés avec la présence de pathogènes et (5) permettre l'utilisation de méthodes de laboratoire simples pour l'énumération (Hurst *et al.*, 2002). Les bactéries fécales sont utilisées à travers le monde en tant qu'indicateurs d'une contamination anthropique des eaux. Elles servent de substitut permettant d'estimer le risque potentiel de la présence d'organismes pathogènes dans les eaux de baignade et destinées à l'aquaculture (Dadswell, 1993, Anderson *et al.*, 2005, Wanjugi & Harwood, 2013). Parmi ceux-ci, les *Escherichia coli* et *Enterococcus* sp., en raison de leur présence spécifique dans les fèces d'animaux à sang chaud et dans les eaux usées, de leur faible pouvoir pathogène et de leur relation avec la présence d'organismes pathogènes (Shibata *et al.*, 2004, Savichtcheva & Okabe, 2006, Harwood *et al.*, 2014), sont considérées comme des traceurs de choix par l'Union Européenne (European Union 75/44/EEC) et l'Agence de Protection Environnementale Américaine (EPA, U.S. Environmental Protection Agency, 1986) (Dufour *et al.*, 1986, Leclerc, 1993). Une méta-analyse portant sur 22 études épidémiologiques, réalisées sur différentes plages du globe entre 1953 et 1996, suggère une relation de cause à effet entre les symptômes d'infections gastro-intestinales et la qualité des eaux de baignade évaluées par la concentration en bactéries indicatrices (coliformes totaux, coliformes fécaux, entérocoques, *E. coli*) (Prüss, 1998). D'autres auteurs ont également démontré une corrélation entre la quantité de bactéries fécales indicatrices (FIB) et l'occurrence de maladies thalassogéniques (Wade *et al.*, 2010) (Fig. 14). Par exemple, le taux d'infections gastro-intestinales chez les nageurs, et plus particulièrement chez les enfants en bas âge, a été positivement corrélé avec la concentration en *Enterococcus* dans l'eau (Wade *et al.*, 2006, Wade *et al.*, 2008).

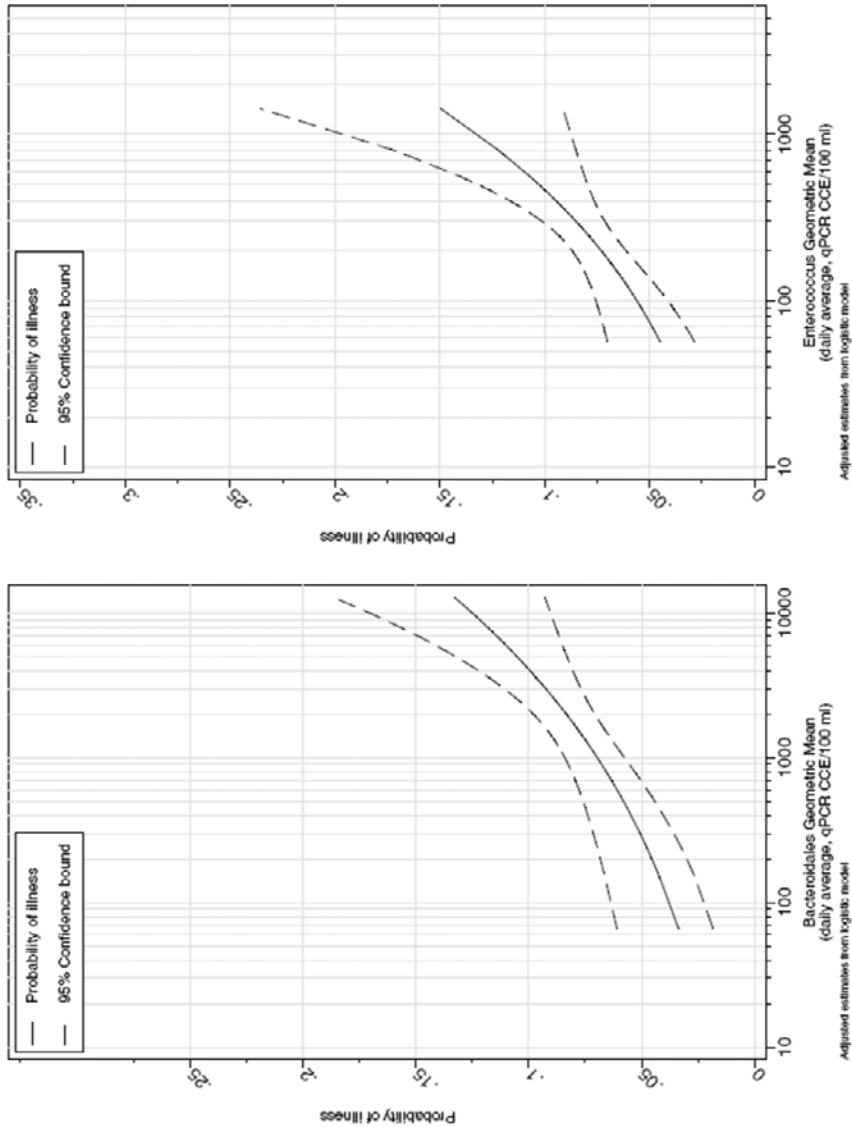
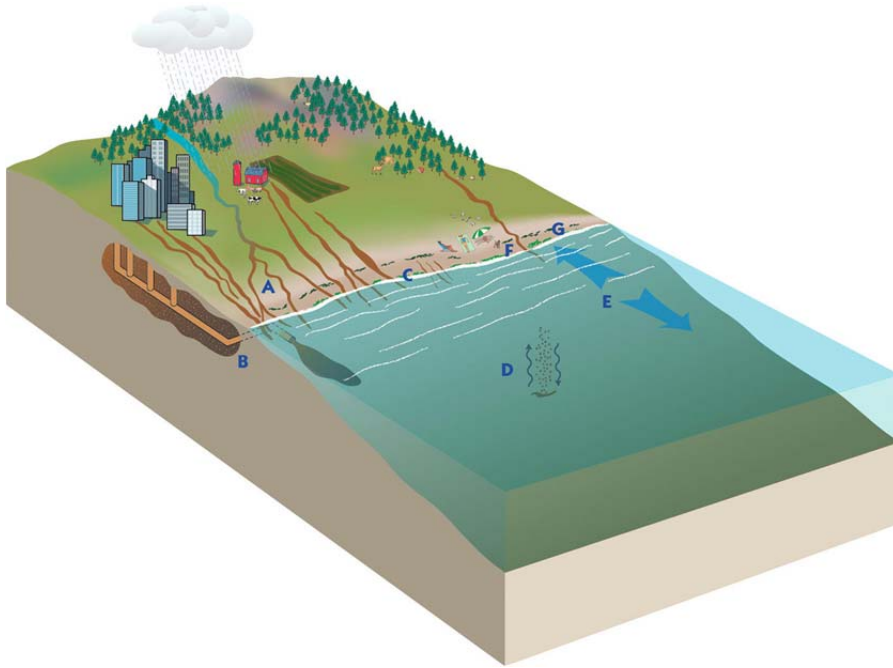


Figure 14 - Estimation de la probabilité de maladies thalassogéniques en fonction des moyennes quotidiennes de *Bacteroidales* et *Enterococcus* estimées par q-PCR (Wade *et al.*, 2010).

### Sources

Les voies d'entrée des FIB dans l'environnement marin sont les mêmes que pour les bactéries pathogènes et peuvent avoir lieu via des sources ponctuelles facilement identifiables et/ou non ponctuelles, diffuses et intermittentes (Stewart *et al.*, 2008). Avec plus de 70% de la

population vivant dans les bassins versants longeant les côtes, les sources ponctuelles sont essentiellement les installations de traitements des eaux usées et les égouts (Fig. 15B) (Vitousek *et al.*, 1997, Halliday & Gast, 2011). En ce qui concerne les sources non ponctuelles, elles peuvent être dues au ruissellement des eaux de pluie sur les zones urbaines et agricoles, à des fuites au niveau des conduites de traitement et d'assainissement des eaux usées ou directement à la faune sauvage environnante (Fig. 15A,B) (Somarelli *et al.*, 2007, Halliday & Gast, 2011). Dans les régions agricoles, les pâturages et les amendements répandus sur les champs peuvent constituer une source importante de contamination, particulièrement lorsque ces exploitations sont concentrées à proximité des zones côtières ou de points d'eau (Crowther *et al.*, 2002, Mieszkin, 2010, Halliday & Gast, 2011). Les « évènements fécaux », quant à eux, consistent en une décharge depuis un bateau, par les baigneurs eux-mêmes lors d'activités récréatives ou par les animaux (Fig. 15F) (Stewart *et al.*, 2008, Halliday & Gast, 2011). Par exemple, les goélands constituent une des sources majeures de bactéries fécales dans les environnements côtiers (Araújo *et al.*, 2014). Toutefois, certains pathogènes et bactéries fécales peuvent se maintenir dans l'environnement marin que ce soit dans le sédiment, le sable, associés à des algues ou à d'autres organismes marins qui jouent alors le rôle de réservoir (Fig. 15C,D,G) (Rozen & Belkin, 2001, Anderson *et al.*, 2005, Stewart *et al.*, 2008). Il peut ensuite y avoir une remise en suspension de ces bactéries à partir de la plage ou du fond durant les grandes marées ou lors d'épisodes de forte agitation des masses d'eau, contribuant de la sorte à la persistance de la contamination (Fig. 15) (Halliday & Gast, 2011). Shibata *et al.* (2004) ont montré que la concentration en bactéries fécales dans la zone de battement pouvait être plus élevée à marée haute (Fig. 15 E).



**Figure 15 – Les différentes voies d'entrée des bactéries fécales dans l'environnement marin.** Parmi les sources, il y a les eaux de ruissellement (A), les émissaires d'égouts et fuites d'eaux usées (B), le sable en tant que réservoir (C), la remise en suspension à partir du sédiment (D), l'eau en elle-même de par sa capacité à influencer, via l'hydrographie locale, le retrait ou la rétention des bactéries au niveau de la plage (E), les événements fécaux (F) et les autres réservoirs potentiels, comme les algues (G) (Halliday & Gast, 2011).

### *Règlementation sanitaire*

Afin de surveiller la qualité des eaux de baignade et de limiter les risques d'infections, l'Union Européenne a mis en place des directives dès les années 70. Celles-ci fixent des seuils limites tels que la concentration en FIB et la fréquence d'échantillonnage. Lorsque les résultats ne rencontrent pas les exigences, la baignade peut être interdite dans la zone et les services publics doivent prendre les dispositions nécessaires afin d'améliorer la qualité des eaux. Ces exigences sont plus strictes quand il s'agit de ressources marines destinées à la consommation. La première directive (76/160/CE) mise en place le 8 décembre 1975 était basée sur la détection et le comptage des coliformes totaux et fécaux, et des



streptocoques fécaux. Celle-ci a été progressivement remplacée par la directive 2006/7/CE mise en place le 15 février 2006 et a pris fin le 31 décembre 2014 (Tabl. 3). Cette nouvelle directive est plus stricte avec un durcissement des valeurs seuils et ne prend plus que deux paramètres en compte, la densité d'*E. coli* et la densité en entérocoques intestinaux. Elle fait également une distinction entre les eaux intérieures, les eaux côtières et les eaux de transition.

Tableau 3 - Règlementation sanitaire microbiologique des eaux de baignade selon la directive européenne 2006/7/CE.

Paramètres (CFU / 100 mL)	Excellente qualité	Bonne qualité	Qualité suffisante	Méthodes de référence pour l'analyse
<b>Entérocoques intestinaux</b>	100 / 200 <sup>a</sup>	200 / 400 <sup>a</sup>	185 / 330 <sup>b</sup>	ISO 7899-1 ou ISO 7899-2
<b><i>Escherichia coli</i></b>	250 / 500 <sup>a</sup>	500 / 1000 <sup>a</sup>	500 / 900 <sup>b</sup>	ISO 9308-3 ou ISO 9308-1

Pour les eaux côtières et les eaux de transition / Pour les eaux intérieures

<sup>a</sup> Évaluation au 95<sup>e</sup> percentile

<sup>b</sup> Évaluation au 90<sup>e</sup> percentile

### *La problématique de la survie des FIB*

Il n'y a pas toujours de relation directe entre les concentrations en FIB et l'occurrence de pathogènes, en particulier lorsque l'origine de la contamination fécale n'est pas une source ponctuelle (Colford *et al.*, 2007). Malgré les nombreux facteurs de stress auxquels les FIB font face une fois hors de leur hôte, elles peuvent survivre, s'installer et même croître, dans certaines conditions, dans l'environnement extérieur (Stewart *et al.*, 2008). En effet, divers habitats ont la possibilité d'offrir à ces bactéries une protection contre les prédateurs ou les UV et des conditions favorables à leur survie, telles que des surfaces colonisables et une disponibilité plus élevée en nutriments. De nombreuses études ont mis en évidence l'existence de souches de FIB naturalisées ou adaptées à

l'environnement extérieur au niveau du sol, des sédiments ou encore des plantes aquatiques (Davies *et al.*, 1995, Byappanahalli & Fujioka, 1998, Byappanahalli *et al.*, 2003, Whitman *et al.*, 2003, Ishii *et al.*, 2006, Badgley *et al.*, 2011). Par exemple, il a été rapporté qu'*E. coli* pouvait survivre de longues périodes de temps (plusieurs jours) et potentiellement se multiplier dans l'eau, sur les algues et au niveau du sol dans les régions tropicales (Carrillo *et al.*, 1985, Byappanahalli *et al.*, 2006), subtropicales (Solo-Gabriele *et al.*, 2000, Desmarais *et al.*, 2002) et tempérées (Whitman *et al.*, 2004, Byappanahalli *et al.*, 2006, Ishii *et al.*, 2006). *Enterococcus* sp. peut quant à elle modifier son état physiologique et persister un certain temps dans un état VBNC dans l'environnement (del Mar Lleo *et al.*, 1998, Halliday & Gast, 2011) ou simplement faire partie de la flore naturelle (Desmarais *et al.*, 2002, Byappanahalli & Fujioka, 2004). Ces souches peuvent donc constituer des populations indigènes qui sont responsables de la rupture de la corrélation entre la présence de FIB et celles de pathogènes, et ne reflètent guère une contamination fécale récente (Halliday & Gast, 2011, Harwood *et al.*, 2013).

La problématique de la survie des bactéries fécales indicatrices « traditionnelles » et la difficulté d'identifier précisément la source de la contamination ont mené la communauté scientifique à rechercher des indicateurs alternatifs. Parmi ceux-ci, les bactéries anaérobies, telles que celles appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium* et *Bifidobacterium*, ont l'avantage de montrer une forte spécificité vis-à-vis de leur hôte et d'avoir un temps de survie très court hors de celui-ci, en raison de leur faible tolérance à l'oxygène (Savichtcheva & Okabe, 2006, McLellan & Eren, 2014). La qualité des eaux pourrait, également, être évaluée à l'aide des entérovirus qui sont spécifiques de leur hôte ou, encore, via l'utilisation de composés organiques fécaux qui indiquent une contamination fécale récente (Dutka *et al.*, 1974, Savichtcheva & Okabe, 2006, Wong *et al.*, 2012, Allmann *et al.*, 2013).

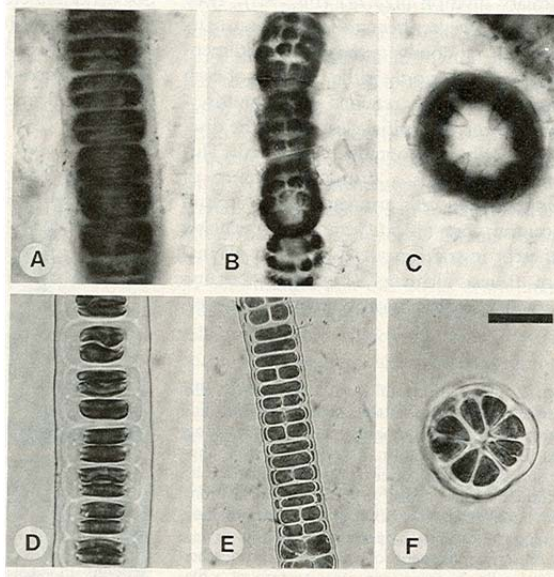
## Les Bangiophycées

C'est en 1977 que Belsher fit les premières observations selon lesquelles les Bangiophycées pouvaient être considérées comme un indicateur d'eutrophisation (Belsher, 1977). Depuis, le laboratoire du Professeur V. Demoulin s'est attaché à les vérifier, les compléter et les affiner. Ce travail est donc une suite logique aux études précédemment réalisées par Licot (1979), Goffart (1982), Lamproye (1984), Detienne (1988), Hoffmann *et al.* (1994), Meyer (2005), Jasick (2007) et Struvay (2008). Licot (1979), Goffart (1982) et Detienne (1988) ont principalement étudié la répartition des Bangiophycées dans la Baie de la Revellata. Alors que Meyer (2005), Jasick (2007) et Struvay (2008) ont tenté d'analyser leur diversité moléculaire en divers endroits de la baie. Étant donné la portée écologique de notre travail, nous avons fait le choix de nous concentrer sur l'évaluation de la densité des Bangiophycées aux abords d'un émissaire et son évolution depuis les années 1980.

### Définition au sens large

Les Bangiophycées appartiennent à l'embranchement des algues rouges (*Rhodophyta*) qui compterait environ 6000 espèces (Yoon *et al.*, 2013) et dont la classification a été revue à plusieurs reprises ces dernières décennies. Ces algues, capables d'occuper une grande diversité de niches écologiques, même les moins propices à la vie, ont colonisé toutes les mers du monde et de nombreux écosystèmes dulcicoles et terrestres (Meyer, 2005). Selon des études phylogénétiques, les Bangiophycées constituent un groupe d'algues relativement ancien. Dans les régions arctiques du Canada, des organismes filamenteux multicellulaires proches de l'ordre des Bangiales modernes et vieux d'environ 1,2 milliard d'années, *Bangiomorpha pubescens*, ont été découverts dans la formation de Hunting (Butterfield *et al.*, 1990, Butterfield, 2000) (Fig. 16). D'autres fossiles plus récents (600 millions d'années) ont été mis à jour en Chine. Ces découvertes soulignent le fait que les Bangiophycées étaient déjà

largement diversifiées à la fin du protérozoïque et avaient une morphologie (thalles foliacés fertiles) identique aux *Porphyra* d'aujourd'hui (Xiao *et al.*, 1998). Toujours dans cette formation, la présence d'organismes plus complexes, semblables aux Corallinacées, suggère une divergence des Floridées antérieure à 600 millions d'années (Xiao *et al.*, 2004).



**Figure 16 - Comparaison entre les filaments fossiles (A à C) et des représentants contemporains de *Bangia artropurpurea* (D à E).** Coupe longitudinale dans un filament unisériel (A, D), coupe longitudinale dans un filament plurisériel (B, E) et coupe transversale dans un filament plurisériel (C, F). Échelle : 20  $\mu\text{m}$  pour A, 50  $\mu\text{m}$  pour B, 30  $\mu\text{m}$  pour C, 35  $\mu\text{m}$  pour D, 80  $\mu\text{m}$  pour E et 50  $\mu\text{m}$  pour F (Butterfield *et al.*, 1990).

Antérieurement, les algues rouges étaient divisées en deux classes ou sous-classes, les *Florideophyceae* (ou *Florideophycidae*) et les *Bangiophyceae* (ou *Bangiophycidae*), cette dernière étant considérée comme le groupe le plus primitif (Garbary *et al.*, 1980, Gabrielson *et al.*, 1985, Garbary & Gabrielson, 1990). Sur base de l'analyse des caractères morphologiques, la classe des *Bangiophyceae* s'articulait, tout d'abord, autour de quatre ordres, les Bangiales, les Compsopogonales, les Porphyridiales et les Rhodochaetales (Garbary *et al.*, 1980) et ensuite

autour de six, avec les Erythropeltidales et les Cyanidiales en plus (Gabrielson *et al.*, 1985). Pour la première fois, la paraphylie des *Bangiophyceae* est suggérée (Garbary & Gabrielson, 1990) et nous parlerons dans le cadre de ce travail des Bangiophycées au sens large. Par la suite, les analyses moléculaires sur les gènes nucléaires ou plastidiens (18S, 16S, *rbcL*) ont confirmé que les Bangiophycées au sens large n'étaient pas un groupe monophylétique et étaient considérées comme une lignée ancestrale des algues rouges. Les Floridées quant à elles formeraient un groupe monophylétique dérivé des Bangiales. À partir de ces observations, une nouvelle classification comptant 5 ordres a été définie : les Bangiales, les Compsopogonales, les Cyanidiales, les Rhodochaetales et les Porphyridiales qui forment un groupe hétérogène comprenant au moins trois lignées distinctes (Freshwater *et al.*, 1994, Ragan *et al.*, 1994, Oliveira & Bhattacharya, 2000, Müller *et al.*, 2001).

D'autres schémas taxonomiques ont été proposés sur base des analyses moléculaires précédentes et des caractères ultrastructuraux (Saunders & Hommersand, 2004) ou de l'étude du gène nucléaire de l'actine (Hoef-Emden *et al.*, 2005). Bien qu'ils constituent une avancée pour la phylogénie des Bangiophycées et complètent les schémas précédents, ils sont encore soumis à certaines incertitudes. Le schéma taxonomique le plus récent a été proposé par Yoon *et al.* (2006) grâce aux progrès réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire. Leur phylogénie est basée sur un large échantillonnage et une analyse multigénique des gènes codants pour une des sous-unités protéiques du Photosystème I (*psaA*) et de la Rubisco (*rbcL*). Ils ont pu mettre en évidence sept lignées distinctes et, par conséquent, proposer une nouvelle classification des Rhodophytes avec deux nouveaux sous-embranchements, celui des *Cyanidiophytina* qui contient une seule et unique classe, les *Cyanidiophyceae* et celui des *Rhodophytina*, composé de six classes, à savoir les *Bangiophyceae*, les *Compsopogonophyceae*, les

*Florideophyceae*, les *Porphyridiophyceae*, les *Rhodellophyceae* et les *Stylonematophyceae* (Yoon *et al.*, 2010) (Tabl. 4).

Tableau 4 - Taxonomie actuelle des algues rouges (Yoon *et al.*, 2010) d'après (Yoon *et al.*, 2006).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>	Haeckel
<b>Phylum</b>	<b>Rhodophyta</b>	Wettstein
<b>Sous-phylum</b>	<b>Cyanidiophytina</b>	Yoon, Müller, Sheath, Ott, et Bhattacharya
<b>Classe</b>	<b>Cyanidiophyceae</b>	Merola, Castaldo, De Luca, Gambardelli, Musacchio et Taddei
<b>Ordre</b>	<b>Cyanidiales</b>	Christensen
<b>Sous-phylum</b>	<b>Rhodophytina</b>	Yoon, Müller, Sheath, Ott, et Bhattacharya
<b>Classe</b>	<b>Bangiophyceae</b>	Wettstein
<b>Ordre</b>	<b>Bangiiales</b>	Nägeli
<b>Classe</b>	<b>Compsopogonophyceae</b>	Saunders et Hommersand
<b>Ordre</b>	<b>Compsopogonales</b>	Schmitz in Engler et Prantl
<b>Ordre</b>	<b>Erythropeltidales</b>	Garbary, Hansen, et Scagel
<b>Ordre</b>	<b>Rhodochaetales</b>	Bessey
<b>Classe</b>	<b>Florideophyceae</b>	Cronquist
<b>Sous-classe</b>	<b>Hildenbrandiophycidae</b>	Saunders et Hommersand
<b>Ordre</b>	<b>Hildenbrandiales</b>	
<b>Sous-classe</b>	<b>Nemaliophycidae</b>	Christensen
<b>Ordre</b>	<b>Acrochaetales, Balbianiales, Balliales, Batrachospermale: Colaconematales, Corallinales, Nemaliales, Palmariales: Rhodogorgonales, Thoreaales</b>	
<b>Sous-classe</b>	<b>Ahnfeltiophycidae</b>	Saunders et Hommersand
<b>Ordre</b>	<b>Ahnfeltiales</b>	
<b>Sous-classe</b>	<b>Rhodymeniophycidae</b>	Saunders et Hommersand
<b>Ordre</b>	<b>Bonnemaisoniales, Ceramiales, Gelidiales, Gigartinales: Gracilariales, Halymeniales, Nemastomatales, Plocamiales: Rhodymeniales</b>	
<b>Classe</b>	<b>Porphyridiophyceae</b>	Yoon, Müller, Sheath, Ott, et Bhattacharya
<b>Ordre</b>	<b>Porphyridiales</b>	Kylin ex Skuja
<b>Classe</b>	<b>Rhodellophyceae</b>	Cavalier-Smith
<b>Ordre</b>	<b>Rhodellales</b>	Yoon, Müller, Sheath, Ott, et Bhattacharya
<b>Classe</b>	<b>Stylonematophyceae</b>	Yoon, Müller, Sheath, Ott, et Bhattacharya
<b>Ordre</b>	<b>Stylonematales</b>	Drew

## Biologie

### *Caractères morphologiques*

En plus d'être proches de l'ancêtre des Rhodophytes, les Bangiophycées ont des caractères morphologiques relativement simples. Certaines peuvent être unicellulaires comme les genres *Porphyridium* et

*Rhodella*, mais la plupart sont multicellulaires, tout en conservant une structure rudimentaire. Elles se présentent soit comme des filaments simples, ramifiés ou non, unisériés ou plurisériés, soit sous la forme de thalles. Notons qu'il existe aussi des genres plus évolués, notamment *Bangia* et *Porphyra*, qui possèdent une structure moins simple. Les caractères permettant de différencier les espèces entre elles sont observables en microscopie (Brodie & Irvine, 2003).

Les Bangiophycées, comme toutes les algues rouges, se distinguent des autres Eucaryotes par l'absence de flagelle et de centriole à n'importe quelle étape de leur cycle de vie (Gabrielson *et al.*, 1990, Graham & Wilcox, 2000). Les chloroplastes des Bangiophycées semblent assez primitifs et auraient pour origine une endosymbiose primaire (Bhattacharya & Medlin, 1995, Delwiche *et al.*, 1995, McFadden, 1999, Bhattacharya *et al.*, 2004, Rodríguez-Ezpeleta *et al.*, 2005, Hackett *et al.*, 2007). Entourés d'une double membrane, ils contiennent de la chlorophylle-*a*, de l'allophycocyanine, de la phycocyanine et de la phycoérythrine sous forme de phycobilisomes localisés à la surface des thylakoïdes, lesquels sont assez proches de ceux des algues bleues (Cyanobactéries) (Gantt, 1990, Yoon *et al.*, 2010). La phycoérythrine est le pigment responsable de la couleur caractéristique des algues rouges mais celles-ci apparaissent bleu-vert lorsque la phycocyanine domine. C'est notamment le cas de *Chroodactylon ornatum*, *Porphyridium aerugineum*, *Chroothecce richteriana* et *Glaucosphaera vaculota*. Généralement, nous ne retrouvons qu'un seul et unique plaste en position axiale ou pariétale chez les Bangiophycées. Chez certains genres (*Erythrotrichia*, *Erythrocladia*, *Porphyridium* et *Chroodactylon*), il peut être étoilé avec un pyrénéoïde central. Ces caractères uniques sont d'une grande importance et ont permis d'établir un rapprochement entre les Cyanidiales et les algues rouges plutôt que les algues bleues (Ueda & Chida, 1987) comme cela a été confirmé ultérieurement par les analyses moléculaires.

Le produit de réserve de ces algues est l'amidon floridéen qui est déposé dans le cytosol, ce qui diffère des algues vertes et des plantes supérieures, chez lesquelles l'amidon s'accumule dans les plastes (Yoon 2010). Il est formé d'un polysaccharide intermédiaire entre l'amylopectine et le glycogène, le  $\alpha$ -1,4 glucane avec de nombreuses ramifications  $\alpha$ -1,6 (Craigie, 1990, Viola *et al.*, 2001).

Les Bangiophycées, à l'exception du genre *Rhodochaete* (Pueschel & Magne, 1987) et du stade conchocelis des Bangiales (Lee, 1971), n'ont normalement pas de pores permettant des connexions intercellulaires. Cette caractéristique est importante, car elle permet de les différencier des Floridées (Pueschel, 1989).

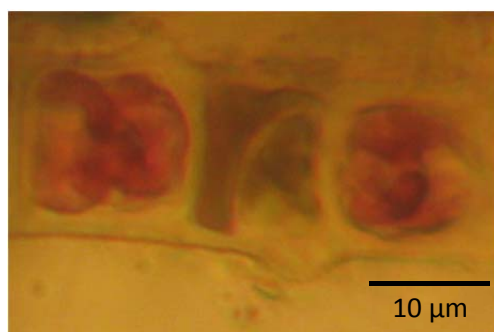
La paroi cellulaire chez la majorité des espèces de Bangiophycées est constituée de microfibrilles de cellulose entourées d'un mucilage externe plus ou moins diffus composé de polysaccharides sulfatés (Cole *et al.*, 1985, Gretz *et al.*, 1991, Dubinsky *et al.*, 1992, Geresh *et al.*, 1992). Le mucilage consiste en un mélange de plus de dix sucres différents, dont majoritairement du xylose, du glucose, du galactose et dans une moindre mesure par du mannose et du galactose méthylé (Li *et al.*, 2000).

### *Reproduction*

Généralement, les Rhodophytes ont un mode de reproduction sexuée avec un cycle de vie triphasique qui comprend une génération gamétophytique et deux autres sporophytiques. Lors de la première phase, le carposporophyte se développe à partir du gamétophyte femelle. Et au cours de la seconde, le tétrasporophyte donne naissance à un organisme libre. En ce qui concerne les Bangiophycées, la stratégie de reproduction la plus courante est la voie asexuée. Elles se reproduisent donc, chez les unicellulaires, par le biais de divisions ou, chez les Bangiophycées multicellulaires, par formation de monospores (Fig. 17). Les spores se divisent alors de façon transversale et intercalaire ou, plus



rarement, apicale comme c'est le cas chez les Floridées. Lorsque l'on se base sur les critères morphologiques, des erreurs de taxonomie peuvent avoir lieu si le monospore n'est pas libéré, germe sur place et forme une nouvelle ramification (Dixon & West, 1967). Nous pouvons également assister à une reproduction sexuée comme cela a été observé chez *Smithora naiadum* (Hawkes, 1988) et chez *Erythrotrichia* (pour revue, voir Magne, (1990) mais celle-ci serait plus primitive, ne présentant pas de tétrasporophyte.



**Figure 17 - Mode de formation particulier des monospores chez les Compsopogonales.** Une cellule indifférenciée est divisée en deux parties inégales par la formation d'une paroi courbe. La plus petite cellule, un monospore se retrouve isolée et libérée par la rupture de la paroi externe (visible sur la photographie). La cellule à gauche de la photographie est en cours de division (Meyer, 2005).

## Intérêts

### *Étude de l'enrichissement des eaux*

Les algues sont des organismes sédentaires, sensibles aux différents facteurs de l'environnement et ont une position basale dans les chaînes trophiques. Toutes ces caractéristiques en font de bons bioindicateurs pour étudier l'écologie des milieux marins et la conservation des écosystèmes littoraux. En effet, elles ont été largement utilisées afin de suivre la qualité des eaux côtières (Borowitzka, 1972, Littler & Murray, 1975, Belsher, 1979, Levine, 1984, Phillips, 1994).

Contrairement aux mesures physico-chimiques, l'utilisation des algues permet d'intégrer les effets d'une exposition à long terme aux perturbations naturelles et anthropiques. Leur utilisation permet également d'étudier l'impact de ces perturbations sur la vitalité des biocénoses. Par exemple, les algues brunes et vertes sont souvent utilisées pour surveiller les contaminations des milieux marins côtiers par les métaux traces, tandis que les ulves et les entéromorphes peuvent servir d'indicateurs d'eutrophisation (pour une revue, voir Ferrat *et al.*, 2003).

Les Bangiophycées semblent, elles aussi, jouer un rôle important dans le domaine de la bioindication en milieu marin. Depuis les années 70, plusieurs travaux ont porté sur la réponse des Bangiophycées aux changements environnementaux. En 1977, Belsher décrétait qu'elles pouvaient constituer un excellent indicateur d'eutrophisation après avoir mis en évidence un net gradient bangiophycéen estival autour de l'égout principal de Marseille (Belsher, 1977). Dans le même temps, au niveau de la Baie de la Revellata, le professeur V. Demoulin et ses collaborateurs ont développé une étude portant sur l'évolution des phytocénoses et leurs réactions aux agents polluants. Jusqu'aujourd'hui, des recensements réalisés par Licot (1979), Goffart (1982), Detienne (1988), Meyer (2005) et Struvay (2008) ont permis d'accumuler de nombreuses données relatives à la distribution des Bangiophycées en fonction d'un gradient d'enrichissement des eaux. La première étude a mis en évidence la difficulté d'identifier les différentes espèces présentes dans la nature. Les deux suivantes ont tenté de lier l'indice présence-absence aux paramètres physico-chimiques du milieu. L'analyse réalisée par Lamproye (1984) portait sur la taxonomie des Bangiophycées et la comparaison des caractéristiques morphologiques entre les individus *in situ* et de culture. Plus récemment, Meyer (2005) et Jasick (2007) ont été les précurseurs de l'étude moléculaire qui a été poursuivie par la suite par Struvay (2008) et qui avait pour but de montrer la diversité moléculaire présente en divers endroits de la Baie de la Revellata. Dans un premier temps, ils se sont

confrontés à la difficulté d'extraire l'ADN bangiophycéen et de l'amplifier par PCR.

### *Organismes modèles*

Les Bangiophycées au sens large peuvent être d'une grande utilité dans le domaine des sciences. En effet, en raison de sa facilité de mise en culture, l'algue unicellulaire *Porphyridium* est la Bangiophycée la plus étudiée. Elle a été utilisée tant en recherche fondamentale, afin d'explorer les mécanismes de photosynthèse, qu'en recherche appliquée notamment pour ses produits dérivés à valeur commerciale tels que les pigments, les acides gras insaturés ou les polysaccharides sulfatés (pour revue, voir Cohen, 1999). *Cyanidioschyzon merolae* est une Bangiophycée microscopique possédant un noyau, un seul chloroplaste, une seule mitochondrie et se reproduisant par fission binaire. Cette structure particulière lui confère le rôle d'organisme modèle pour la compréhension des mécanismes les plus fondamentaux des cellules eucaryotes photosynthétiques (plantes, algues). Elle fut notamment la première algue à avoir la totalité de son génome nucléaire séquencée (Matsuzaki *et al.*, 2004). C'est également l'un des plus petits génomes eucaryotes photosynthétiques à être séquencé avec 16,5 kb et 5331 gènes.

Les algues ont également été employées dans le domaine biomédical. Chez les algues rouges, des polysaccharides sulfatés ont été mis en évidence dans les parois et ont montré une activité antivirale contre de nombreux virus s'attaquant aux vertébrés. Les polysaccharides des Bangiophycées ont les mêmes propriétés. Par exemple, sans que l'on connaisse vraiment le mode d'action, *Porphyridium* aurait un effet contre certains rétrovirus appartenant à la famille de l'herpès (Huheihel *et al.*, 2002, Talyshinsky *et al.*, 2002). *Porphyra yezoensis* disposerait, quant à elle, de sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), des sulfolipides qui sont capables d'inhiber l'activité de la télomérase humaine, une enzyme qui

pourrait jouer un rôle dans la prolifération des cellules cancéreuses (Eitsuka *et al.*, 2004).

En ce qui concerne les biotechnologies, de nouvelles polymérase thermostables ou des applications en photoremédiation pourraient être mises au point en étudiant les propriétés écophysologiques de *Galderia sulfararia*. Cette Cyanidiale représente jusqu'à 90% de la biomasse dans des habitats extrêmes tels que les sources sulfureuses (pH entre 0 et 4 et température jusqu'à 56°C) où d'ordinaire seule la vie procaryote est possible (Weber *et al.*, 2004).

Enfin, les Bangiophycées peuvent également présenter un certain intérêt économique. Le genre *Porphyra* est largement utilisé en Asie pour la production du nori utilisé par les Japonais pour la confection des sushis, entre autres. La Chine en est le plus grand producteur mondial suivi par le Japon et la République de Corée. En 2012, 1 123 290 tonnes ont été produites représentant une valeur de plus de 71 millions de dollars US (FAO, 2014).

### **Les Bangiophycées à Calvi**

Comme nous l'avons déjà précisé, il n'y aurait pas moins de 6000 espèces de Rhodophycées reconnues dans le monde et plus du double serait encore à découvrir (Norton *et al.*, 1996). Les Bangiophycées, quant à elles, ne seraient représentées que par 164 espèces.

En Corse, 14 espèces de ce qui était identifié comme des Bangiophycées d'après le catalogue de Boudouresque & Perret-Boudouresque (1987), auraient été recensées : 8 Erythropeltidales (*Erythrocladia giber*, *Erythrocladia polystromatica*, *Erythrocladia irregularis*, *Erythrocladia violacea*, *Erythrotrichia carnea*, *Erythrotrichia investiens* et *Erythrotrichia rosea*), 3 Bangiales (*Bangia artropurpurea*, *Porphyra leucosticta* et *Porphyra umbilicalis*) et 3 Stylonematales (*Chrodactylon ornatum*, *Stylonema alsidii* et *Stylonema cornu-cervi*).

Depuis le début des études dans la région de Calvi, cinq espèces, plus reconnaissables, ont été utilisées afin d'étudier l'hypothèse du gradient Bangiophycéen en fonction de l'eutrophisation énoncée par Belsher en 1977. Ces individus, tous épiphytes, sont *Erythrotrichia carnea*, *Erythrocladia irregularis*, *Stylonema alsidii*, *Stylonema cornu-cervi* et *Chroodactylon ornatum*. La première, *Erythrotrichia carnea*, est retrouvée de l'Arctique à l'Antarctique et est dite cosmopolite. Les quatre autres sont plus éloignées des cercles polaires et possèdent donc une distribution subcosmopolite. La dernière, *Chroodactylon ornatum*, aurait une sensibilité plus importante à la température qu'à l'enrichissement du milieu. À l'heure actuelle, ces espèces n'appartiennent plus toutes à la classe des Bangiophycées mais dans un souci de compréhension et de comparaison avec les études réalisées précédemment, nous conserverons l'appellation « Bangiophycées » au sens large.

## Objectifs du projet

Le bassin Méditerranéen est une région d'une grande richesse biologique avec un taux d'endémisme élevé mais, de par sa position géographique centrale entre l'Europe, l'Asie et l'Afrique, elle est également très convoitée d'un point de vue économique. L'agriculture, les industries, la pêche, les ports de commerce et le tourisme ainsi que les populations résidentes n'ont fait qu'augmenter ces dernières décennies, et plus particulièrement au niveau du littoral. Cette affluence a d'importantes répercussions qui conduisent à la dégradation progressive de l'environnement côtier le rendant écologiquement vulnérable. Nous assistons, notamment, à l'introduction d'espèces exotiques provoquant la perte et l'extinction d'espèces indigènes et à une augmentation importante des rejets d'eaux usées avec pour conséquences l'eutrophisation des zones côtières et la pollution microbiologique. En raison de toutes ces pressions, il est crucial d'étudier l'évolution et l'état de santé de l'environnement marin côtier afin de prendre les dispositions adéquates pour assurer une gestion durable de cet écosystème essentiel à bien des égards.

Dans ce contexte, l'observation de la structure des communautés bactériennes constitue un premier indicateur important de l'état de santé de l'écosystème côtier. En effet, les bactéries ont la capacité d'adapter leur métabolisme et de modifier la structure de leurs populations pour faire face aux perturbations environnementales. Le premier objectif de ce travail était donc de (1) contribuer à la description de la communauté bactérienne d'un lieu ponctuellement et localement impacté par l'activité humaine (Baie de la Revellata, Corse) et (2) d'approfondir nos connaissances sur ses activités oxydatives afin de mieux comprendre le rôle qu'elle joue dans l'environnement. À cette fin, nous avons employé la méthode de pyroséquençage 454 qui permet d'examiner en profondeur la diversité des communautés bactériennes et les microplaques BIOLOG GEN

III basées sur l'utilisation de différents substrats carbonés par les bactéries hétérotrophes (**Chapitre 3**).

Le second objectif de cette thèse consistait à évaluer plus en profondeur l'impact anthropique sur l'écosystème côtier de la Baie de la Revellata (**Chapitre 4**). Notre étude s'est donc orientée sur les bactéries fécales indicatrices (FIB) telles qu'*E. coli* et *Enterococcus* sp. qui sont employées à travers le monde en tant qu'indicateurs d'une contamination anthropique des eaux. Ces organismes sont spécifiquement présents dans les fèces d'animaux à sang chaud, ont un faible pouvoir pathogène et leur occurrence est en étroite relation avec la présence d'organismes pathogènes. Par conséquent, elles sont employées comme substitut dans le but d'estimer la présence potentielle d'organismes pathogènes dans les eaux de baignade ou celles destinées à l'aquaculture. Pour ce faire, nous avons utilisé une technique de PCR quantitative qui permet de cibler les bactéries d'intérêt à l'aide de sondes fluorescentes spécifiques, et des tests Petrifilm 3M qui sont des milieux sélectifs prêts à l'emploi ayant l'avantage d'être peu coûteux, de nécessiter peu de matériel et d'être faciles d'utilisation. Ces deux méthodes ont également été comparées afin de déterminer si les tests Petrifilm 3M pouvaient être appliqués lors d'un criblage préliminaire de sites potentiellement problématiques, et constituer une bonne alternative pour les programmes de surveillance de la qualité des eaux dans les pays en voie de développement ou impliquant des volontaires. Cependant, des études ont pu mettre en évidence que les FIB actuellement utilisées ne sont pas toujours en corrélation avec l'occurrence de pathogènes et les infections thalassogéniques. En effet, celles-ci pourraient persister dans certains habitats où elles trouvent une protection contre les prédateurs ou les UV, une disponibilité plus élevée en nutriment et des surfaces colonisables. Un test de survie des *E. coli* a donc été réalisé *in situ* afin de déterminer ce qu'il advient des bactéries fécales une fois relarguées dans la Baie de la Revellata et d'évaluer l'influence potentielle de la présence de l'herbier de *Posidonia oceanica*.

En raison de leur taux de croissance rapide, les bactéries ont comme désavantage de ne pas intégrer les modifications auxquelles les communautés ont été préalablement exposées. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié, en complément, l'évolution des populations de Bangiophycées en réalisant des comptages en microscopie optique (**Chapitre 5**). En effet, ces algues rouges épiphytes, dont le rôle en tant qu'indicateur d'eutrophisation a été mis en évidence par Belsher en 1977, sont capables d'intégrer les effets d'une exposition à long terme aux perturbations affectant l'environnement. De plus, le suivi de leur densité et de leur répartition dans la Baie de la Revellata, effectué depuis 1981 par le Professeur V. Demoulin et ses collaborateurs, nous permet de replacer ces données dans un contexte temporel plus large et de déterminer l'évolution de la qualité de l'environnement méditerranéen côtier dans la Baie de la Revellata.