

Etude des efflorescences algales des lagons polynésiens en mésocosme et par meta-barcoding

Responsable (s) de stage :

Jérémy Vidal-Dupiol, CR IFREMER
jeremie.vidal.dupiol@ifremer.fr
33(0)4-67-14-46-2

Laboratoire d'accueil et nom du Directeur :

Interactions Hôtes Pathogènes Environnement IHPE, DU Guillaume Mitta

Equipe d'accueil :

Mécanismes d'Interaction et d'Adaptation en Milieu Marin

Description du stage

Etat de l'art

En Polynésie, de nombreux lagons d'atolls sont fréquemment le siège d'épisodes d'efflorescences algales. Appelés localement vetia, ces épisodes étaient autrefois relativement rares et ne duraient que quelques jours. Phénomènes naturels, ces efflorescences surviennent généralement à l'occasion de conditions hydro-climatiques anormales telles que des précipitations déficitaires ou excédentaires, des températures plus élevées que les normales saisonnières, ou encore la faiblesse des échanges entre l'eau des lagons et l'océan (Alberteau, 1998). Cependant, dans de nombreux atolls de Polynésie, s'y ajoutent des causes d'apparition d'origine anthropique liées au développement parfois anarchique des activités agricoles et perlicoles. C'est ainsi que, depuis une quarantaine d'années, on observe dans certains atolls des épisodes de vetia anormalement longs et intenses (Dufour & Berland, 1999).

Spectaculaires par les phénomènes d'eaux colorées qu'elles génèrent (Pagès, 1996), ces efflorescences phytoplanctoniques peuvent occasionnellement entraîner des mortalités de masse de la faune lagonaire (poissons, élevages d'huîtres perlières...) (Adjeroud et al., 2001). Ces dernières ont plusieurs causes possibles telles que l'anoxie du milieu, l'irritation et/ou le colmatage des branchies des animaux, ou encore la production de phycotoxines dans le milieu marin. Ainsi, outre les effets délétères de ces efflorescences sur l'environnement, ces développements algaux peuvent également représenter un danger pour les populations résidentes via la bioaccumulation des phycotoxines produites dans les réseaux trophiques lagunaires.

C'est dans ce contexte que le programme Efflorex (2014-2016) (http://wwz.ifremer.fr/umr_eio/Vie-scientifique/Missions/Mission-EFFLOREX-2) a été mis en place ; un des aspects novateurs du projet réside dans la synergie des approches associant des essais d'enrichissement en mésocosmes pour déclencher artificiellement des efflorescences et des approches de taxonomie moléculaire à haut débit pour en étudier la dynamique et la diversité.

Objectifs du stage

Au cours de ce stage l'étudiant aura pour mission d'analyser par des approches de bioinformatique les données de meta-barcoding 18s, issues de la mission Gen-Florex qui s'est déroulée en mars 2016 sur l'atoll de Takaroa (archipel des Tuamotou). Il s'agira en particulier : i) de nettoyer les données brutes (illumina Miseq), ii) de les confronter aux banques taxonomiques mondiales, iii) d'en déterminer la diversité pour chaque point d'échantillonnage, iv) de comparer ces échantillonnages entre eux, v) mais aussi au cours du temps. La rédaction d'un article scientifique pourra être envisagé au cours du stage.

Méthodes utilisées

Enrichissement en milieux semi-contrôlés de type mésocosmes (déjà effectué) :

Les mésocosmes utilisés sont des poches de polyéthylène cylindriques, d'une contenance de 5 m³, soutenues chacune par une armature métallique rattachée à deux flotteurs cylindriques en PVC (Figure 1). Ces mésocosmes ont été remplis avec de l'eau brute du lagon prélevée dans les sites où la richesse spécifique du phytoplancton est maximale. Trois conditions distinctes d'enrichissement ont été testées sur une période de 10 jours : i) solution d'engrais à des concentrations mimant un scénario d'enrichissement d'origine anthropique, ii) milieu Conway et iii) milieu f/2 sans silice. L'évolution de la biomasse phytoplanctonique et de la structure de taille des communautés a été suivie quotidiennement par la mesure de la chlorophylle a (Chl-a), totale et fractionnée (< 3µm, 3-10 µm, > 10µm).

Prélèvements des échantillons (déjà effectué) :

Afin de déterminer d'un point de vue qualitatif et quantitatif l'évolution des communautés lors des efflorescences induites en mésocosme, des échantillonnages ont été réalisés tous les jours post-enrichissement durant 10 jours. Chaque jour, 20 L d'eau ont été prélevés au sein des mésocosmes puis filtrés sur un gradient de porosité (< 3µm, 3-10 µm, > 10 µm) afin de fractionner chaque échantillon en pico, nano et micro/macroplancton. Les filtres ont été conservés en RNAlater puis à -80°C jusqu'à utilisation.

Préparation des échantillons et métabarcoding (déjà effectué) :

Pour chaque échantillon, l'ADN total a été extrait à partir du filtre entier à l'aide du kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel). Qualité et quantité ont été évaluées via un dosage au nanodrop et une migration sur gel d'agarose 0,8%. Cet ADN environnemental a ensuite été utilisé comme matrice pour l'amplification PCR de la boucle v4 du gène codant l'ARN18s (Massana et al. 2015). Cette séquence présente à ce jour, pour les protistes marin, le meilleur compromis, entre la présence de régions très conservées qui permettent le design d'amorces universelles autorisant la couverture d'une très large gamme d'espèces et, la présence de régions variables relativement longues (200 à 500 pb) permettant d'acquérir une information taxonomique fiable et diversifiée sans contamination d'origine procaryotique. Les amplicons obtenus suite à ces PCR ont ensuite été séquencés en pair-end 2*250 pb sur un séquenceur Miseq d'Illumina (sous-traitance plateforme de séquençage McGill Génome Québec).

Analyses bioinformatiques (à réaliser au cours du stage) :

Les séquences brutes seront dans un premier temps démultiplexées, leur qualité sera évaluée et elles seront filtrées dans le but d'éviter l'introduction de biais issus d'erreur de séquençage. Les séquences ayant passé ces étapes de nettoyage seront ensuite

confrontées aux banques de données de meta-barcoding mondial (SILVAbase) et clustérisées en unité taxonomique opérationnelle (OTU) afin d'évaluer la diversité taxonomique en présence. Afin de développer les approches quantitatives, un metabarcodage de référence sera créé avec l'ensemble des séquences d'OTU détectés, tous échantillons et tous réplicats confondus. Les séquences obtenues seront ensuite alignées sur ce metabarcodage de référence et comptées. Le résultat du nombre de séquences alignées par OTU de référence permettra de définir l'abondance relative de chaque OTU vis à vis des autres.

Références :

- Adjeroud M., Andréfouët S., Payri C. 2001. Mass mortality of macrobenthic communities in the lagoon of Hikueru atoll (French Polynesia). *Coral Reefs*, 19: 287-291.
- Alberteau S. 1998. Evènements climatiques et perliculture : analyse de l'influence des conditions climatiques anormales sur l'écosystème lagunaire et sur les cheptels de nacres en Polynésie française. Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées, Option « Environnements méditerranéens », Université de Corse, 49 pp.
- Dufour P. & Berland B. 1999. Nutrient control of phytoplanktonic biomass in atoll lagoons and Pacific ocean waters: Studies with factorial enrichment bioassays. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 234: 147-166.
- Massana, R., Gobet, A., Audic, S., Bass, D., Bittner, L., Boutte, C., Chambouvet, A., Christen, R., Claverie, J.-M., Decelle, J., Dolan, J.R., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Forn, I., Forster, D., Guillou, L., Jaillon, O., Kooistra, W.H.C.F., Logares, R., Mahé, F., Not, F., Ogata, H., Pawlowski, J., Pernice, M.C., Probert, I., Romac, S., Richards, T., Santini, S., Shalchian-Tabrizi, K., Siano, R., Simon, N., Stoeck, T., Vaultot, D., Zingone, A., de Vargas, C., 2015. Marine protist diversity in European coastal waters and sediments as revealed by high-throughput sequencing. *Environmental Microbiology* 17, 4035-4049.
- Pagès J. 1996. Notes et mesures sur un phénomène d'eaux vertes autour de Tahiti en mars 1996. Rapport interne Ifremer, 7 pp.