



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER
LABORATOIRE D'ECOBIOLOGIE DES MILIEUX MARINS ET LITTORAUX

Thèse présentée en vue de l'obtention du Diplôme de :
DOCTEUR en Sciences de la mer
Option : Gestion intégrée des zones cotières (GIZC)

**Diversité, dynamique spatiotemporelle et toxicité
potentielle des cyanobactéries dans deux plans
d'eau (Réservoir Hammam Debagh et lac Oubeira)**

Présentée par :

M^{lle}. GUELLATI Fatma Zohra

Devant le Jury :

Directeur **BENSOUILAH Mourad** (Prof. Univ. Badji-Mokhtar, Annaba)
Co-directeur **HUMBERT Jean-François** (DR. INRA, Paris)
President **DJEBAR Abdallah Borhene** (Prof. Univ. Badji-Mokhtar, Annaba)
Examineur **AOUN Laila** (Prof. Univ. El-Tarf)
Examineur **CHEKIREB Djamel** (Prof. Univ. Badji-Mokhtar, Annaba)
Examineur **NASRI Hichem** (Prof. Univ. El-Tarf)

Remerciements

La recherche est loin d'être un travail personnel, car ce dernier doit beaucoup aux collaborations et échanges. Une histoire entre individus qu'il me tient à cœur de les remercier aujourd'hui et de leurs exprimer toute ma gratitude.

Je tiens à remercier Professeur Djebbar Borhane d'avoir présidé mon Jury de thèse mais aussi d'avoir fait confiance en moi et m'avoir permis d'intégrer sa formation doctorale. Au membre de Jury Professeur Chekireb Djamel, Professeur Aoun Leila et Professeur Nasri Hichem qui ont accepté de lire et de juger mon travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes respects.

Mes premiers pas dans la recherche je les dois à Professeur Bensouilah Mourad, mon directeur de thèse. Merci de m'avoir donné cette opportunité. Je vous dois de m'avoir guidé et soutenu tout en m'autorisant à gérer un bon nombre d'aspects de ce travail de façon autonome. Je ne vous remercierai jamais assez pour cela !! Merci aussi de faire de votre mieux pour faire tourner le laboratoire EMMAL !

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude et ma reconnaissance à mon co-directeur de thèse Jean-François Humbert. Tout à commencer en 2014 avec un message envoyé par mail auquel il a répondu favorablement, merci de m'avoir fait confiance et avoir accepté de co-diriger ma thèse. Merci de m'avoir formé et consacré de votre temps précieux, malgré la grande masse de travail que vous avez. J'ai beaucoup appris de vous, que je ne trouve pas les mots pour m'exprimer ! Je ne peux finir sans vous remercier vous et Catherine Quiblier pour m'avoir accueilli chez vous et réconforter ma solitude à Paris même quand vous n'étiez pas sur Paris Fignatelle était las ! Catherine, merci pour ta gentillesse et merci d'avoir accepté de corriger mon article et m'orienter dans les moments de doute.

A Kevin, avec qui ce fut un plaisir de travailler. Merci de m'avoir aidé à la mise en place des manipes de Biomol. Merci à toi et à Veronica pour les pauses café, les déjeuner...je n'oublierai de remercier le personnel du laboratoire BIOEMCO, je citerai Clarisse, Paula, Johana et Catherine.

Ce travail est aussi le fruit d'une collaboration avec l'équipe CCE au MNHN de Paris, à sa tête Professeur Cécile Bernard. Merci de m'avoir accueilli dans votre équipe et avoir dirigé les manipes de PP1a. Je remercie également Alain couté, Sahima, Maria pour nos discussions si riches et passionnantes du monde des cyanobactéries. Benjamin, Charlotte et Claude merci de m'avoir aidé avec votre savoir-faire, vos conseils dans les moments de doutes lorsque la manipe de PP1a ne fonctionnait pas !

J'adresse mes sincères remerciements au personnel de l'ANBT et l'ADE à Hammam Debagh, je citerai Bahri Kamel, Amraoui Salah, Samira et Embarka. Merci d'avoir facilité mes échantillonnages, que vous trouvez ici l'expression de ma reconnaissance.

Mon travail de terrain n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution tout au long de mes trois années de prélèvements de « ma compagnante de guerre » ma sœur (sayé c'est fini !). Merci à Khalil et Badis avec qui j'ai fait mes premières sorties sur terrain. Je remercie également Hassen et Salah qui m'ont remplacé quand j'étais en stage.

Une pensée nostalgique aux étudiants et post doc avec qui j'ai partagé des moments de plaisir et avec qui j'ai tissé des liens d'amitié je citerai : Issam, Sofiene, Soumaya, Sandra, Sara, Fatma, Rabi, Kader, Digo, Hamdi, Samia, Hassen, Salah, Saber, Salma, Isidora, Imene, Séverine, Benoit, Qin, Caroline, Huong, Simona, Yannick...

A toutes les personnes que j'ai croisées sur mon chemin je citerai : Christophe Laplace Treytire et Frédérique Rimet. Merci de m'avoir donné l'occasion de scruter la beauté du phytoplancton. Choukri Baarour, je te remercie de tes briefing stat malgré le temps n'était pas en notre faveur tu as su me transmettre de ton savoir-faire.

Je n'en serai pas las sans ma famille, merci de m'avoir soutenu tout au long de ce parcours (et me supporter ces derniers mois !). Je n'oublierai de remercier mon fiancé de m'encourager d'aller en avant, pour sa patience et son soutien inconditionnel dans les moments durs. Je ne peux terminer sans remercier ma chère copine Souad, merci pour ton écoute et d'être toujours las...

*Une pensée à mon papa que j'ai perdu durant ma 3^{ème} année
de thèse, tu m'as inspiré et tu m'inspireras toujours
J'espère que de là où tu es, tu sois fière de moi*

AA	acide aminé
ANBT	agence nationale des barrages et transfert
BCC	Bacterial community composition
BMAA	β -N-methylamino-L-alanine
BSA	bovin serum albumin
CyanoHAB	cyanobacteria harmful algal blooms
DCA	dichloroacetate
DGGE	denaturing gradient gel electrophoresis
DTT	dithiothréitol
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
Eq.MC-LR	équivalent microcystines LR (L:Leucine, R: Arginine)
FG	functional classification
GIEC	groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat
ha	habitants
HEPES	acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
I.C.B.N	code international de nomenclature botanique
I.C.N.B	code international de nomenclature bactériologique
ITS	internal transcribed spacer
LD	limite de detection
LPS	lipopolysaccharides
MBFG	morphology-based functional classification
MCs	microcystines
MFG	morpho-functional classification
MPRH	ministère de la pêche et des ressources halieutiques
N	azote total
NGS	nouvelles générations de séquençages
NRPS	peptide synthétase non ribosomale
OMS	organisation mondiale de la santé
OTU	operational taxonomic unit
P	phosphore total
pb	paire de base
PKS	peptide polyketide synthase
PM	Poids Moléculaire
PNEK	parc national d'El-Kala
pNP	para-nitrophénol
pNPP	para-nitrophényl phosphate
PP1a, PP2a	protéines phosphatases alcaline
TRIS	trishydroxyméthylaminométhane (2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol)
UNESCO	organisation des nations unies pour l'éducation, la science et la culture
WHO	word health organization
WRI	world ressources institut
Z _{eu}	zone euphotique
Z _m	zone de mélange

Résumés

Les objectifs visés dans le cadre de cette thèse sont i) l'étude de l'écologie de *P. rubescens* dans la retenue Hammam Debagh ; ii) l'identification, dans ce même plan d'eau, des principaux facteurs et processus impliqués dans la co-occurrence et parfois la prolifération de *Planktothrix rubescens* et/ou *Microcystis sp.* ; iii) la détermination du potentiel toxique des cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh. iv) l'étude comparative de la dynamique temporelle des phycosphères de cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh et le lac Oubeira.

Pour cela, des échantillons d'eau brute ont été prélevés entre février 2013 et Juin 2015 dans la retenue Hammam Debagh et entre avril 2014 et février 2015 dans le lac Oubeira. L'étude de la dynamique de *Planktothrix rubescens* et *Microcystis sp.* et celle des paramètres environnementaux impliqués a nécessité l'utilisation d'approches microscopiques, de mesures « *in situ* » et d'analyses chimiques au laboratoire. En ce qui concerne l'étude de la diversité génétique des cyanobactéries et leurs phycosphères, nous avons procédé à un suivi de la région hypervariable V3-V4 (344 pb) du gène qui code pour l'ARNr 16S et à une approche de séquençage massif Illumina MiSeq. Quant à la toxicité des cyanobactéries de la retenue Hammam Debagh, elle a été estimée par l'application du test d'inhibition de la protéine phosphatase alcaline PP1a.

La succession saisonnière des cyanobactéries responsables de la formation des blooms appartenant à des groupes fonctionnels distants est un phénomène qui n'a pas été décrit auparavant. Durant cette période d'étude, *P. rubescens* et *Microcystis sp.* cohabitent de septembre à janvier et prolifèrent alternativement au printemps 2015 pour *P. rubescens* et au printemps 2014 et automne 2014/2015 pour *Microcystis sp.* Ces changements de dominance seraient liés aux variations de la hauteur de la colonne d'eau lors de la période de mélange et aux températures enregistrées durant l'hiver qui précède la période de bloom. Par ailleurs, de faibles concentrations en microcystines (eq. MC-LR = 0,36 µg L⁻¹) ont été enregistrées dans ce plan d'eau.

L'approche moléculaire a permis de déterminer 89 espèces et genres ; cette richesse spécifique élevée des cyanobactéries est accompagnée par une faible diversité du fait de la dominance de *Microcystis sp.* d'octobre 2013 à novembre 2014. Les résultats de l'analyse des BCC montrent une dominance très marquée des Proteobacteria dans les deux plans d'eau ; Dans le lac Oubeira, il est toutefois noté une forte présence des Fusobacteria ; ces derniers enregistrent 10% des séquences au moment du bloom de cyanobactéries survenu lors des quatre derniers mois de l'année 2014.

L'étude de la dynamique temporelle de ces communautés montre que dans la retenue de Hammam Debagh leur structure change profondément d'une période à l'autre, sauf en août et septembre où elle reste stable ; en revanche, dans le lac Oubeira, la structure des communautés bactériennes ne varie que pendant les mois d'avril et mai et reste pratiquement la même pendant la période s'étalant d'août à novembre.

Mots clés. cyanobactéries, *Microcystis sp.*, *Planktothrix rubescens*, microcystines, phycosphère, Hammam Debagh, Lac Oubeira

The aims of this work were i) to compare the ecology of *P. rubescens* in the Hammam Debagh reservoir and in alpine lakes, since until now it has only been observed in northern countries. ii) to identify the main factors and processes involved in the co-occurrence and sometimes proliferation of *Planktothrix rubescens* and/or *Microcystis* sp. in the reservoir Hammam Debagh. iv) to determine the toxic potential of cyanobacteria always in the reservoir Hammam Debagh. iii) to determine the temporal variation of the structure and the composition of the phycosphere of cyanobacteria in this freshwater body in comparison with the lake Oubeira.

Thus, water samples were collected monthly from February 2013 to June 2015 in the reservoir Hammam Debagh and from April to February 2015 in the lake Oubeira. The analysis of the dynamic of the two cyanobacteria and the involved environmental variables were studied with microscopic approach and physico-chemical measures and analysis respectively. Whereas, the study of the genetic diversity of cyanobacteria and its phycosphere were estimated by targeting the V3-V4 hyper-variable regions (344-bp) of the 16S rRNA gene with High throughput Illumina MiSeq sequencing approach. Finally, the toxicity of cyanobacteria was estimated by the colorimetric phosphatase alcalin (PP1a) inhibition assay test.

Succession in bloom-forming cyanobacteria belonging to distant functional groups in freshwater ecosystems is currently an undescribed phenomenon. From our results, it appears that *P. rubescens* and *Microcystis* sp. coexisted (from September to January) but proliferated alternately (Spring 2015 for *P. rubescens* and Spring 2014 and Autumn 2014/2015 for *Microcystis*). The main factors and processes explaining these changes in bloom-forming species seem to be related to the variation in the depth of the reservoir during the mixing period and to the water temperatures during the winter prior to the bloom season in spring. In addition, our results show a very low concentration of Microcystins ($0.36 \mu\text{g L}^{-1}$ of eq. MC-LR) in this reservoir. The molecular approach showed that the Hammam Debagh reservoir displays high species richness (89 species) but very low diversity due to the high dominance of *Microcystis* in this community (October 2013 to November 2014). In addition, our results show a shared dominance of Proteobacteria in the two freshwater body. However, we have highlighted the important presence of Fusobacteria (10% of the sequences) in the lake Oubeira during the last four months of 2014, at the same time of the cyanobacteria bloom. Finally, the temporal dynamics of bacteria communities in the reservoir Hammam Debagh show that their structure changes profoundly from one date to another, except for the two months of August and September when it remains stable. Whereas, in the lake Oubeira, the structure of the bacterial communities remains practically the same for four months (August-November) whereas it was more variable for the other two months (April and May).

Keywords. cyanobacteria, *Microcystis* sp., *Planktothrix rubescens*, microcystin, phycosphere, Hammam Debagh, Lake Oubeira

تتمثل الأهداف الرئيسية لهذه الدراسة تتمثل في: 1- مقارنة بيئة *Planktothrix rubescens* المتواجدة في سد حمام دباغ و نضيرتها في بحيرات الألب, حيث أن أغلبية الدراسات متواجدة في البلدان الشمالية. 2- تحديد العوامل والعمليات الرئيسية المسؤولة عن تواجد بكتيريا *Planktothrix rubescens* و *Microcystis*sp. إما كليتيهما في نفس الوقت أو انتشار واحدة منهما في بعض الأحيان في سد حمام دباغ. 3- تحديد قدرة البكتيريا الزرقاء في إنتاج السموم بسد حمام دباغ. 4- من ناحية أخرى ومن وجهة نظر أساسية, اهتماماتنا متجهة أيضا إلى دراسة الديناميكية الزمنية للافيكوسفير الخاصة بالبكتيريا الزرقاء في سد حمام دباغ بالمقارنة بتلك المتواجدة في بحيرة أبيراء. من أجل ذلك قمنا بأخذ عينات من المياه في الفترة الممتدة من فيفري 2013 إلى جوان 2015 بسد حمام دباغ و من أفريل 2014 إلى فيفري 2015. بالنسبة للتحاليل الخاصة بديناميكية *P.rubescens* و *Microcystis*sp. والعوامل البيئية الخاصة بها, قمنا بدراستها بواسطة ملاحظات مجهرية, قياسات وتحاليل كيميائية في المخبر. أما بالنسبة لدراسة التنوع الجيني للبكتيريا الزرقاء و الفيكوسفير الخاصة بها, قمنا برصد المنطقة "V3-V4" الشديدة التغير (344 pb) من أجين المسؤول عن تشفير ARNr 16S و ذلك بواسطة Illumina MiSeq في سد حمام دباغ و بحيرة أبيراء. في الأخير, التحاليل الخاصة بسموم البكتيريا الزرقاء بسد حمام دباغ تمت دراستها عن طريق اختبار تثبيط أنزيم Phosphatase alkaline PP1a.

أن التتابع الموسمي للبكتيريا الزرقاء المسؤولة عن تكوين ما يسمى «blooms» و المصنفة ضمن مجموعات وظيفية بعيدة عن بعضها, هي ظاهرة لم يتم وصفها من قبل. في فترة دراستنا, يبدو أن *Microcystis*sp. و *P.rubescens* تتعايشان في سد حمام دباغ من سبتمبر إلى جاني وتنتشران بالتناوب في ربيع 2015 بالنسبة ل *P.rubescens* و في ربيع 2014 و خريف 2015/2014 بالنسبة ل *Microcystis*sp. العوامل البيئية التي تم تحديدها على أنها السبب في هذه التغيرات في الهيمنة تتمثل في تغيرات عمق السد في فترة اختلاط هذا الأخير و درجات الحرارة الضعيفة المسجلة في فصل الشتاء قبل موسم الازدهار بالنسبة ل *P.rubescens*. علاوة على ذلك تم تسجيل تركيزات جد منخفضة لسم microcystine (0.36 ميكروغرام / ل من LR- Eq MC) في سد حمام دباغ. أما في ما يخص الدراسة الجينية لعامة البكتيريا الزرقاء, أظهرت النتائج ثراء كبير قدر ب 89 نوع. وفي نفس الوقت تنوع ضعيف ويعود ذلك إلى أن البكتيريا *Microcystis*sp. كانت مهيمنة في سد حمام دباغ (من أكتوبر 2013 إلى نوفمبر 2014). أخيرا, أظهرت نتائج المقارنة بين الفيكوسفير الخاصة بالبكتيريا الزرقاء لسد حمام دباغ و بحيرة أبيراء هيمنة طبقة *Proteobacteria* في كليهما. بالرغم من هذا, أبرزت دراستنا وجود نسبة كبيرة من فيئة *Fusobacteria* (10%) في بحيرة أبيراء و ذلك خلال الأشهر الأربعة الأخيرة من 2014 في وقت إزهار البكتيريا الزرقاء. و أخيرا أظهرت الديناميكية الزمنية للمجتمعات البكتيرية في سد حمام دباغ تغيرات مستمرة من شهر إلى آخر ماعدا شهري أوت و سبتمبر أين كانت مستقرة. بينما في بحيرة أبيراء, أظهرت النتائج هيكله مستقرة لهاده المجتمعات لمدة أربعة شهور.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الزرقاء, *Planktothrix rubescens*, *Microcystis*sp., microcystine,

حمام دباغ, بحيرة أبيراء, الفيكوسفير

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE

<i>Contexte générale</i>	1
<i>Objectifs de la thèse</i>	3
<i>Organisation du manuscrit</i>	5

CHAPITRE I. GENERALITES

1.1. Fonctionnement global des écosystèmes aquatiques	8
1.1.1. Différences entre un lac et un réservoir.....	8
1.1.2. Mise en place de la stratification thermique.....	9
1.1.3. Classification des écosystèmes aquatiques.....	10
1.1.3.1. Classification selon les modèles de circulation annuelle.....	10
1.1.3.2. Classification en fonction du niveau trophique.....	12
1.2. Les cyanobactéries	13
1.2.1. Diversité des cyanobactéries.....	13
1.2.1.1. Approches morphologique versus génétique.....	13
1.2.1.2. Approches fonctionnelles	16
1.2.2. Développement des blooms de cyanobactéries et contraintes.....	18
1.2.3. Avantages adaptatifs et déterminisme environnementale.....	20
1.2.3.1. Stratégies du succès compétitif des cyanobactéries.....	20
1.2.3.2. Efflorescences des cyanobactéries versus eutrophisation.....	23
1.2.3.3. Impact du réchauffement climatique.....	23
1.2.3.4. Toxines produites par les cyanobactéries.....	25
- <i>Microcystines : description et voies de biosynthèse</i>	26
1.3. Interaction des cyanobactéries et des bactéries	28
1.3.1. Le microhabitat phytoplanctonique.....	28
1.3.2. La phycosphere cyanobactérienne.....	29
1.3.3. Différents types d'interactions entre les cyanobactéries et les communautés bactériennes.....	30
1.3.3.1. Influences des bactéries sur la croissance des cyanobactéries	30
1.3.3.2. Influence des cyanobactéries sur les bactéries.....	31

CHAPITRE II. DESCRIPTION DES SITES D'ETUDE ET LES STRATEGIES D'ECHANTILLONNAGE

2.1. Contexte	33
2.2. Présentation des sites d'étude	34
2.2.1. Description de la retenue Hammam Debagh.....	34
2.2.2. Description du lac Oubeira	35
2.3. Description des bassins versants des sites d'études	35
2.3.1. Bassin versant de l'Oued Bouhamdane.....	35
2.3.2. Bassin versant du Lac Oubeira.....	37
2.4. Stratégies et méthodes de prélèvements	38
2.4.1. Stratégies et méthodes employées dans la retenue Hammam Debagh....	38
- <i>Méthodes d'échantillonnage en surface</i>	39
- <i>Méthodes d'échantillonnage et mesures dans la colonne d'eau</i>	40
2.4.2. Stratégies et méthodes employées dans le lac Oubeira.....	40

CHAPITRE III. DIVERSITE GENETIQUE DES CYANOBACTERIES ET LA COMPETITION/COHABITATION DE *PLANKTOTHRIX RUBESCENS* ET *MICROCYSTIS SP.* : DYNAMIQUE SPATIO-TEMPORELLE

3.1. Introduction	42
3.2. Méthodologie	44
3.2.1. Approche microscopique dans l'étude de <i>P. rubescens</i> et de <i>Microcystis</i> sp.....	44
3.2.2. Etude de la diversité génétique des cyanobactéries.....	45
3.2.2.1. Préparation des échantillons.....	45
3.2.2.2. Extraction et purification de l'ADN.....	45
3.2.2.3. Amplification de l'ADN par PCR.....	46
3.2.2.4. Principe du Séquençage Illumina MiSeq.....	48
3.2.2.5. Traitement des données de séquençage.....	49
3.2.3. Paramètres de la structure et la composition des peuplements de cyanobactéries.....	49
3.2.3.1. Richesse spécifique.....	49
3.2.3.2. Estimateur de la richesse spécifique : indice Chao1.....	49
3.2.3.3. Diversité spécifique : Indice Shannon-Weaver.....	50
3.2.4. Analyse des nutriments	50

3.2.5. Biomasse phytoplanctonique globale.....	50
3.2.6. Evaluation du potentiel toxique des cyanobactéries.....	51
3.2.6.1. Principe du test d'inhibition de l'enzyme PP1a	51
3.2.6.2. Extraction des microcystines.....	52
3.2.6.3. Expérience multifactorielle.....	52
3.2.6.4. Mesure de l'activité catalytique de l'enzyme PP1a.....	54
3.2.6.5. Evaluation de la concentration en MCs.....	54
3.2.7. Analyse statistique.....	56
3.3. Résultats.....	56
3.3.1. Profils verticaux et horizontaux des variations des paramètres physico – chimiques.....	56
3.3.1.1. Fluctuation des variables climatiques, conductivité et pH.....	56
3.3.1.2. Température et oxygène dissous.....	59
3.3.1.3. Zone de mélange et zone euphotique.....	61
3.3.1.4. Nutriments et les ions ferreux.....	63
3.3.2. Interactions entre les cyanobactéries et les variables environnementales.....	67
3.3.3. Dynamique spatio-temporelle de <i>P. rubescens</i> et <i>Microcystis sp.</i>	70
3.3.3.1. Dynamique de la distribution des deux cyanobactéries en sub-surface.....	70
3.3.3.2. Dynamique de la distribution verticale des deux cyanobactéries.....	73
3.3.4. Variations temporelles des proportions de cyanobactéries dans la retenue.....	75
3.3.5. Etude de la richesse et la diversité des communautés de cyanobactéries.....	77
3.3.6. Comparaison de l'approche moléculaire et l'approche microscopique.....	78
3.3.7. Variation spatiotemporelles des teneurs en microcystines.....	79
3.4. Discussion.....	81
 CHAPITRE IV. ASSEMBLAGE DES COMMUNAUTES BACTERIENNES ASSOCIEES AUX CYANOBACTERIES DANS DEUX PLAN D'EAU DE L'EST ALGERIEN	
4.1. Introduction.....	85
4.2. Méthodologie.....	86
4.2.1. Séquençage Illumina MiSeq et traitement des données.....	86
4.2.2. Analyse statistique.....	87
4.3. Résultats.....	88

4.3.1. Comparaison des assemblages des communautés bactériennes dans les deux sites d'étude	88
4.3.1.1. Richesse et diversité des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries.....	88
4.3.1.2. Etude de la composition des communautés bactériennes.....	92
4.3.2.3. Variations temporelles dans les abondances relatives des différents ordres bactériens présents dans les deux écosystèmes.....	95
4.3.2. Influence des facteurs environnementaux sur la structure des communautés bactériennes.....	97
4.3.2.1. Chlorophylle-a et transparence de l'eau.....	97
4.3.2.2. Sources d'azote et de phosphore : NO ₃ , NO ₂ , PO ₄	97
4.3.2.3. Température de l'eau et de l'air et pluviométrie.....	100
4.3.2.4. Oxygène dissous, pH et conductivité.....	101
4.3.2.5. Modèles d'influence des paramètres physico-chimiques sur la structure des communautés bactériennes dans les deux écosystèmes.....	102
4.3.2.6. Analyse canonique des correspondances (CCA) réalisées sur les variables physico-chimiques et climatiques et sur la composition des communautés bactériennes considérée à l'échelle taxonomique des ordres.....	103
4.4. Discussion	107
 CHAPITRE V. DISCUSSION GENERALE	
5.1. Eléments de réponses relatives à la problématique des proliférations des cyanobactéries dans la retenue de Hammam Debagh.....	110
5.1.1. Impact local et global du réchauffement climatique.....	110
5.1.2. Potentiel toxique des cyanobactéries dans la région d'étude.....	112
5.2. Phycosphere des cyanobactéries dans la retenue de Hammam Debagh et dans le lac Oubeira.....	113
 CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	117
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	119

Introduction générale

Figure 1. Efflorescence à *Planktothrix rubescens* dans la retenue Hammam Debagh. b) photo prise lors de la senescence du « bloom », c-d) « Bank-filtration » effectué afin de réduire la densité de *P. rubescens* en surface. Photos prises lors de l'expertise effectuée par le groupe de travail chargé de l'étude des cyanobactéries dans le laboratoire EMMAL-UBMA.....3

Figure 2. Frise chronologique du travail effectué au cours des années de thèse..7

Chapitre I.

Figure 1. Zonation longitudinale dans un réservoir (modifié de Kimmel & Groeger, 1984).....8

Figure 2. Variation du profil de température dans un lac stratifié.....9

Figure 3. Distribution globale des types de lacs selon la latitude, corrigée de l'influence de l'altitude, de la profondeur maximale et du fetch (d'après Lewis 1983).....11

Figure 4. Arbre phylogénétique basé sur 21 protéines conservées comprenant les plus récents changements dans la classification des cyanobactéries (Komárek *et al.*, 2014).....15

Figure 5. Vues de blooms de cyanobactéries. a) Bloom d'*Aphanizomenon sp.* au lac Dianchi, Chine; b) Bloom de *Lyngbia* au lac Atitlan, Guatemala (Paerl & Otten, 2013) ; c) Vu aérienne d'un bloom dominé par *Microcystis* au lac Erie, USA (Paerl *et al.*, 2014); d) Bloom de *Planktothrix rubescens* au lac Ledro, Italie (Phycokey Oscillatoria images) ; e) *Microcystis* au lac Erie, USA–Canada (NASA MODIS) (Paerl & Otten, 2013) ; f) Vue d'un bloom dominé par *Microcystis* au lac Taihu (Paerl *et al.*, 2014).....19

Figure 6. Schéma conceptuel illustrant les différents facteurs environnementaux et écologiques externes et internes qui contrôlent la croissance, l'accumulation (blooms) et le devenir des cyanobactéries dans les écosystèmes aquatiques. Les facteurs peuvent agir individuellement ou de façon combinée. On y trouve également les différentes techniques et stratégies appliquées afin de contrôler/éliminer les CyanoHAB, en fonction de la manipulation de leurs exigences écologiques et de l'interférence avec leurs stratégies de croissance (Paerl *et al.*, 2014).....22

Figure 7. Relations entre le réchauffement climatique et la probabilité qu'une communauté de phytoplancton soit dominée par les cyanobactéries (d'après Kosten <i>et al.</i>, 2012).	23
Figure 8. Les relations entre la température et les taux de croissance spécifiques des cyanobactéries et de trois différents groupes taxonomiques du phytoplancton eucaryote (chlorophytes, dinoflagellés et diatomées) (d'après Paerl <i>et al.</i>, 2016).	24
Figure 9. Structure chimique des microcystines. Les résidus stables et variables sont indiqués par des ellipses grises et roses respectivement (modifié de Pareira <i>et al.</i> , 2013).	26
Figure 10. Représentation schématique du cluster de genes <i>mcy</i> des genres <i>Microcystis</i>, <i>Planktothrix</i> et <i>Anabaena</i>. Les NRPS, PKS et les gènes impliqués dans la synthèse des enzymes de finalisation des queues peptidiques sont indiqués en vert clair, orange et autres couleurs respectivement.	27
Figure 11. Transformation bactérienne de la matière organique dérivée du phytoplancton. Abréviations. DOM: Matière organique dissoute. DOC : Carbone Organique Dissous. DON : azote Organique Dissous. DOP : Phosphore Organique Dissous. POM : Matière organique Particulaire. POC : Carbone Organique Particulaire. PON : azote Organique Particulaire. POP : Phosphore Organique Particulaire (D'après Buchan <i>et al.</i> , 2014).	28
Figure 12. Micrographie MEB qui montre l'attachement spécifique des bactéries aux hétérocytes d'<i>Anabaena circinalis</i>. H : hétérocyte, V : cellule végétative, B : bactéries (d'après Paerl <i>et al.</i> , 1977).	29
Figure 13. Interactions métaboliques potentiellement bénéfiques entre les cyanobactéries et les bactéries hétérotrophes associées (Paerl & Pinckney 1996).	31
Chapitre II.	
Figure 1. Localisation géographique de la retenue Hammam Debagh. a) Bassin versant de l'Oued Bouhamdane ; b) vue globale de la retenue Hammam Debagh ; c) Bassin méditerranéen Ouest.	34
Figure 2. Localisation géographique du lac Oubeira. a) Parc National d'El-Kala ; b) Carte du bassin méditerranéen.	36

Figure 3. Localisation des différentes stations de prélèvements dans la retenue Hammam Debagh. Carte du levier bathymétrique réalisé en 2004 (ANBT, Guelma) : la partie la plus foncé (St4) indique la partie la plus profonde de la retenue.....	38
Figure 4. Localisation des différentes stations de prélèvements dans le lac Oubeira.....	41
 Chapitre III.	
Figure 1. Distribution géographique de <i>Planktothrix spp.</i> étudiées soit par isolement (taxonomie polyphasique, cercles), soit par observations microscopiques (symboles carrés) (D'après Kurmayer <i>et al.</i>, 2016).....	43
Figure 2. Les quatre principales étapes du séquençage Illumina.....	48
Figure 3. Principe du test colorimétrique d'inhibition de la protéine phosphatase PP (Sassolas <i>et al.</i>, 2011).....	52
Figure 4. Schéma de la microplaque (96 puits) utilisée pour le test multifactoriel.	
Figure 5. Schéma illustrant la répartition des différentes solutions dans la microplaque (96 puits).....	55
Figure 6. Variations de la conductivité dans les quatre stations de prélèvements (a) et des paramètres météorologiques (b-c) dans la retenue Hammam Debagh.....	57
Figure 7. Variation spatio-temporelle du pH en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.....	58
Figure 8. Profil vertical du pH durant les années 2013, 2014 et 2015 au centre de la retenue Hammam Debagh.....	58
Figure 9. Variation spatio-temporelle de la saturation en O₂ dissous enregistrée en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.....	59
Figure 10. Variation du profil de la température centre de la retenue Hammam Debagh (St3).....	60
Figure 11. Variation spatio-temporelle de la saturation en O₂ dissous enregistrée en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.....	60
Figure 12. Variation temporelle de la saturation en O₂ dissous au centre de la retenue Hammam Debagh.....	61

Figure 13. Variations de la zone de mélange et la zone euphotique au centre de la retenue (St3) Hammam Debagh.....	62
Figure 14. Diagramme décisionnel de la classification des lacs en fonction du mélange de la colonne d'eau.....	62
Figure 15. Variations de la turbidité en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.....	63
Figure 16. Variation spatio-temporelle des concentrations des nutriments.....	64
Figure 17. Variation spatio-temporelle des concentrations en nutriments au centre de la retenue Hammam Debagh.	65
Figure 18. Variation spatio-temporelle des ions ferreux en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.	66
Figure 19. Variation temporelle des ions ferreux au centre de la retenue Hammam Debagh.	66
Figure 20. Analyse en composante principale (PCA) réalisée sur l'ensemble des paramètres environnementaux. (a) Corrélations des facteurs environnementaux (flèche bleu) avec le plan factoriel formé par les deux premiers axes (b) indique la dispersion des différents échantillons (points noirs) sur le plan factoriel défini par les deux premiers axes, les échantillons sont regroupés par mois dans des ellipses. Les correspondances des abréviations sont pour Zmax : profondeur maximale, %O₂: pourcentage de saturation en oxygène, Evap: évaporation, WT°C: température de l'eau, AT°C : température de l'air, Zeu: profondeur de la zone euphotique, Cond: conductivité, Zm: zone de mélange, Turb: turbidité de l'eau.....	68
Figure 21. Analyse en composante principale (PCA) réalisée sur l'ensemble des paramètres environnementaux. Les échantillons distribués sur le plan factoriel (formé par les deux premiers axes) sont regroupés par station dans des ellipses...	69
Figure 22. Aspect macroscopique et microscopique de <i>Microcystis sp.</i> (a,c) et <i>P. rubescens</i> (b,d). Les photos ont été prises le 18.04.2015 et le 05.05.2014 pour <i>P. rubescens</i> et <i>Microcystis sp.</i> respectivement. La figure b montre des bulles d'air à la surface de la retenue témoignant d'une activité photosynthétique.....	70
Figure 23. Variations spatio-temporales des abondances de <i>P. rubescens</i>, <i>Microcystis sp.</i> et de la Chlorophylle-a en sub-surface (1m) au niveau des quatre stations de prélèvements. L'interpolation a été obtenue en utilisant le logiciel Surfer Golden Software (v. 7.0, Golden Software Inc.).....	72

- Figure 24. Variation de la distribution verticale de *P. rubescens*, *Microcystis sp.* et de la concentration en Chlorophylle-a dans la colonne d'eau au centre de la retenue Hammam Debagh (St3).** L'interpolation a été obtenue en utilisant le logiciel Surfer Golden Software (v. 7.0, Golden Software Inc.). La profondeur de la zone de mélange est indiquée dans la figure (trait noir avec cercles blancs). La couleur marron se réfère à la variation de la profondeur de la retenue d'un mois à l'autre.....74
- Figure 25. Migration des produits de la PCR sur gel d'agarose.** * correspond aux standards du poids moléculaire.....75
- Figure 26. Proportions des nombres de séquences des cyanobactéries les plus fréquentes (top 15).** Le nombre de séquences obtenues a été sous-échantillonné de façon aléatoire pour obtenir au final un nombre de séquences égal au plus petit nombre de séquence (n = 1367 reads) dans chaque échantillon.....76
- Figure 27. Comparaison des abondances de *P. rubescens* et *Microcystis sp.* estimées par l'approche microscopique et par l'approche moléculaire entre Octobre 2013 et Novembre 2014.** (a) Indique le nombre des séquences de *P. rubescens* et *Microcystis sp.* obtenues par un séquençage massif Illumina MiSeq. (b) montre les variations temporelles des abondances cellulaires de *P. rubescens* et *Microcystis sp.*, le nombre de cellules par mL est indiqué après calcul de la médiane à partir des 4 stations de prélèvements.....78
- Figure 28. Diagramme conceptuel illustrant les principaux facteurs environnementaux contribuant au succès adaptatif de *Planktothrix rubescens* dans la retenue Hammam Debagh.** La couleur rouge brun dans l'eau représente la dispersion de *P. rubescens*.....83

Chapitre IV.

- Figure 1. Variation temporelle de la richesse et la diversité des communautés bactériennes dans la retenue de Hammam Debagh (a) et dans le lac Oubeira (b).....89**
- Figure 2. Analyse de raréfaction des OTUs (similitude des séquences $\geq 98\%$) observés dans a) la retenue Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira.....90**
- Figure 3. Composition des communautés bactériennes représentées à l'échelle du phylum dans le réservoir Hammam Debagh (a) et dans le lac Oubeira (b) et à**

l'échelle des classes pour le phylum des <i>Proteobacteria</i> dans la retenue Hammam Debagh (c) dans le lac Oubeira (d).....	93
Figure 4. Variation temporelle des proportions des communautés bactériennes à l'échelle du phylum dans a) le réservoir Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira.....	94
Figure 5. Variation temporelle dans la structure des communautés bactériennes considérée à l'échelle des ordres dans a) le réservoir Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira après normalisation des échantillons (sans les séquences des cyanobactéries) par rapport à l'échantillon au nombre plus petit des séquences (n=9999 reads). La surface de chaque cercle est proportionnelle à l'abondance relative de l'ordre considéré. Les proportions des cyanobactéries sont indiquées en haut de chaque graphe. Ces proportions sont calculées après normalisation de tous les jeux de données (toutes les bactéries y compris les cyanobactéries) par rapport à l'échantillon contenant le plus petit nombre de séquences (n=25724 reads).....	96
Figure 6. Variation temporelle de la concentration en chlorophylle-a et la transparence de l'eau dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les concentrations en chlorophylle-a et la transparence de l'eau correspondent à la moyenne des mesures réalisées des cinq stations du lac Oubeira et des quatre stations de la retenue Hammam Debagh.....	98
Figure 7. Variation temporelle des concentrations en NO₃, NO₂, PO₄ dans le lac Oubeira (a) et dans la retenue de Hammam Debagh (b). Les concentrations en nutriment correspondent à la moyenne des mesures réalisées des cinq stations du lac Oubeira et des quatre stations de la retenue Hammam Debagh.....	99
Figure 8. Variation temporelle de la pluviométrie, température de l'air et la température de l'eau dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les valeurs de la pluviométrie, température de l'air et de l'eau correspondent à la moyenne des mesures réalisées des cinq stations du lac Oubeira et des quatre stations de la retenue Hammam Debagh. Dans chaque station de prélèvement la pluviométrie est cumulée à partir des 15 jours avant la date de prélèvement.....	100
Figure 9. Variation temporelle de la conductivité électrique de l'eau, concentration en oxygène dissous et le pH dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les valeurs de conductivité, oxygène dissous et pH	

correspondent à la moyenne des mesures réalisées des cinq stations du lac Oubeira et des quatre stations de la retenue Hammam Debagh.....101

Figure 10. Arbre de classification des paramètres physico-chimiques par site.

Abréviations. BM : Bou-Merchen, DG : Day L'Graa, ME : Messida, DR : Demnet Erihane, CE : centre.....102

Figure 11. Analyse canonique des correspondances (ACC). Triplot des

échantillons des communautés bactériennes, variables physico-chimiques et dates de prélèvements dans le lac Oubeira. Abréviations: *Act: Actinomycetale, Aero: Aeromonadales, Baci: Bacillales, Bact: Bacteroidales, Bur: Burkholderiales, Camp: Campylobacterales, Cau: Caulobacterales, Chro: Chromatiales, Clos: Clostridiales, Cyt: Cytophagales, Dei: Deinococcales, Entero: Enterobacterales, Fla: Flavobacterales, Fuso: Fusobacterales, Nei: Neisseriales, Pla: Planctomycetales, Pseu: Pseudomonadales, Rhi: Rhizobiales, Rho: Rhodobacterales, Rick: Rickettsiales, Sph-bac: Sphingobacterales, Sph-mon: Sphingomonadales, Ver: Verrucomicrobiales, Vib: Vibrionales, Xan: Xanthomonadales*.....104

Figure 12. Analyse canonique des correspondances (ACC). Triplot des

échantillons des communautés bactériennes, variables physico-chimiques et dates dans le réservoir de Hammam Debagh. Abréviations: *Act: Actinomycetale, Aero: Aeromonadales, Baci: Bacillales, Bact: Bacteroidales, Bur: Burkholderiales, Camp: Campylobacterales, Cau: Caulobacterales, Chro: Chromatiales, Clos: Clostridiales, Cyt: Cytophagales, Dei: Deinococcales, Entero: Enterobacterales, Fla: Flavobacterales, Fuso: Fusobacterales, Nei: Neisseriales, Pla: Planctomycetales, Pseu: Pseudomonadales, Rhi: Rhizobiales, Rho: Rhodobacterales, Rick: Rickettsiales, Sph-bac: Sphingobacterales, Sph-mon: Sphingomonadales, Ver: Verrucomicrobiales, Vib: Vibrionales, Xan: Xanthomonadales*.....105

Chapitre I.

Tableau 1. Chevauchements théoriques et différences morphologiques entre les trois classifications fonctionnelles du phytoplancton les plus fréquemment utilisées : MBFGs (morphology-based functional classification), MFGs (morpho-functional classification), FGs (Functional classification) ; (d'après Abonyi, 2014)	17
Tableau 2. Genres de cyanobactéries et les toxines qui leurs sont associées (d'après Cheung <i>et al.</i>, 2013)	25

Chapitre III.

Tableau 1. Quantification des extraits d'ADN	46
Tableau 2. Amorces choisies pour l'amplification des régions V3-V4 de l'ADNr 16S	47
Tableau 3. Conditions de la PCR	47
Tableau 4. Composition des solutions utilisées dans les différentes étapes du test d'inhibition de la protéine PP1a	53
Tableau 5. Indices écologiques calculés après normalisation des échantillons par rapport à l'échantillon au plus petit nombre de séquences sans tenir compte du mois de Juillet (Aug= 1367 reads)	77
Tableau 6. Variation des teneurs en microcystines (eq. MC-LR) en sous-surface	79-80

Chapitre IV.

Tableau 1. Quantification des pools d'extraits d'ADN après réajustement de la concentration à environ 20ng L-1 dans le lac Oubeira	86
Tableau 2. Indices écologiques liés à la richesse et la diversité des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh et dans le lac Oubeira	91

Introduction générale

Contexte général

Dans les milieux aquatiques, les organismes phytoplanctoniques sont responsables d'une grande partie de la production primaire et se trouvent ainsi à la base des réseaux trophiques pélagiques. En effet, même si ces microorganismes ne représentent que 1% de la biomasse des organismes photosynthétiques sur Terre, ils assurent néanmoins 45% de la production primaire (Chisholm, 1995 ; Behrenfeld *et al.*, 2001 ; Azam & Malfatti, 2007), d'où l'importance écologique qu'ils jouent dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques.

Les cyanobactéries représentent l'unique classe de procaryote au sein du compartiment phytoplanctonique. Dans les eaux douces, en réponse aux conditions environnementales, ces microorganismes ont des capacités de proliférations massives, appelées efflorescences (ou « blooms » en anglais). Ces phénomènes posent de nombreux problèmes et ils semblent de plus en plus fréquents partout dans le monde, en liaison avec les activités anthropiques croissantes (e.g. Paerl *et al.*, 2014).

À l'échelle mondiale, l'utilisation des engrais dans l'agriculture et les rejets des stations d'épuration des eaux usées ont entraîné une augmentation du phosphore et d'azote disponibles pour la production primaire. Falkowski *et al.* (2000) estiment que l'augmentation liée à l'utilisation des engrais est de l'ordre d'un facteur deux pour l'azote et d'un facteur quatre pour le phosphore. Par ailleurs, ces modifications des cycles biogéochimiques seraient accélérées par le réchauffement climatique (Huber *et al.*, 2012 ; Bukowska *et al.*, 2017). Les nutriments exercent un contrôle de type « bottom-up » sur la croissance cellulaire des cyanobactéries. Par opposition à ces facteurs dits ascendants, les processus de prédation/brouillage par le zooplancton, les mollusques filtreurs et les poissons et l'action lytique des virus constituent également des facteurs de contrôle de type descendant ou « Top-down », sur la dynamique des cyanobactéries (e.g. Torres *et al.*, 2016 ; Kosten *et al.*, 2012). Enfin, dans chaque écosystème la dynamique des cyanobactéries sera influencée par des facteurs et processus propres à chacun d'eux tels que la température, la durée de stratification de la colonne d'eau, la transparence.

Par ailleurs, les interactions entre les cyanobactéries et les autres bactéries des écosystèmes aquatiques jouent probablement un rôle important dans la dynamique des proliférations, rôle qui n'est pour l'instant que peu connu. En effet, lors des

événements de proliférations, des quantités importantes de carbone organique sont générées par les cyanobactéries sous diverses formes (i.e. exsudats cellulaires, mucilage). Il a d'ailleurs été considéré que les colonies de *Microcystis* qui sont constituées de cellules et d'une matrice de polysaccharides constituent une véritable niche écologique pour les bactéries environnantes (Worm & Sondergaard, 1998). Dans le contexte d'étude de ces communautés bactériennes associées aux cyanobactéries, l'apparition récente des nouvelles générations de séquençages à haut débit (NGS) dites de seconde génération a révolutionné l'écologie microbienne dans les années récentes (Liu *et al.*, 2012 ; Tan *et al.*, 2015). Parmi ces méthodes, celles de séquençage d'amplicons de courtes tailles qui constituent de véritables codes-barres permettant d'identifier et de quantifier l'ensemble des espèces bactériennes quand un gène universellement distribué est ciblé (i.e. ADNr 16S) (Woese & Fox, 1977) ou pour identifier et quantifier les espèces impliquées dans une fonction précise quand des gènes fonctionnels sont choisis (e.g. *nifH* pour la fixation de l'azote atmosphérique). L'intérêt des NGS est de générer des millions voir des milliards de séquences permettant de disposer d'une meilleure description du monde microbien et de mettre en évidence l'existence d'une biosphère dite « rare » (Shokralla *et al.*, 2012 ; Sogin *et al.*, 2006).

Les proliférations de cyanobactéries ont de nombreux impacts sur les écosystèmes aquatiques et sur les usages qui en sont faits. Elles conduisent tout d'abord à un déséquilibre dans les écosystèmes aquatiques via une perte de diversité dans la communauté phytoplanctonique qui est alors dominée par une ou un nombre restreint d'espèces. Cette perte de diversité peut modifier les réseaux trophiques et perturber le fonctionnement de l'ensemble de l'écosystème. Les proliférations ont également des impacts sur les paramètres physico-chimiques de l'eau et notamment sur les concentrations en oxygène et sur le pH de l'eau. Enfin, il est bien connu que les cyanobactéries sont potentiellement capables de synthétiser de nombreuses toxines dangereuses pour la santé humaine et animale.

Les risques sanitaires pour l'homme et les autres organismes vivants mais aussi les impacts économiques des proliférations des cyanobactéries ont motivé depuis les années 2000, la mise en place de programmes de surveillance, principalement dans les pays du Nord. Plus récemment, un nombre croissant de pays du Sud ont entrepris des initiatives similaires dans les plans d'eau destinés à la production d'eau potable

(Nasri *et al.*, 2007 ; Quiblier *et al.*, 2008; Sitoki *et al.*, 2012 ; Saoudi *et al.*, 2015). Ces programmes de surveillance ont permis d'améliorer la gestion de ces phénomènes et de limiter l'exposition des consommateurs aux cyanotoxines. Parallèlement, les données générées par ces suivis ont également permis de mieux connaître l'écologie des cyanobactéries dans cette région de la biosphère.

La région du « Maghreb » souffre de pénuries d'eau et se trouve parmi les zones critiques. Selon le World Ressources Institut (WRI, 2014), la plus grande partie de l'Algérie présente des niveaux de risques liés à la qualité de l'eau, qui vont de niveaux élevés (3-4) à très élevés (4-5). A l'instar de nombreux autres pays, la politique actuelle de gestion des ressources en eau va vers une préservation de ces ressources hydriques et vers un développement d'outils d'évaluation de ces ressources en eau dans tous les bassins versants.

Objectifs de la thèse

Le réservoir Hammam Debagh, a connu en 2012 une prolifération spectaculaire d'une cyanobactérie du genre *Planktothrix* ce qui a motivé la mise en place de la thèse.

L'intérêt de ce travail reposait principalement sur le fait que l'espèce qui proliférait, *Planktothrix rubescens*, n'avait été jusqu'ici observée que dans les pays du Nord et dans

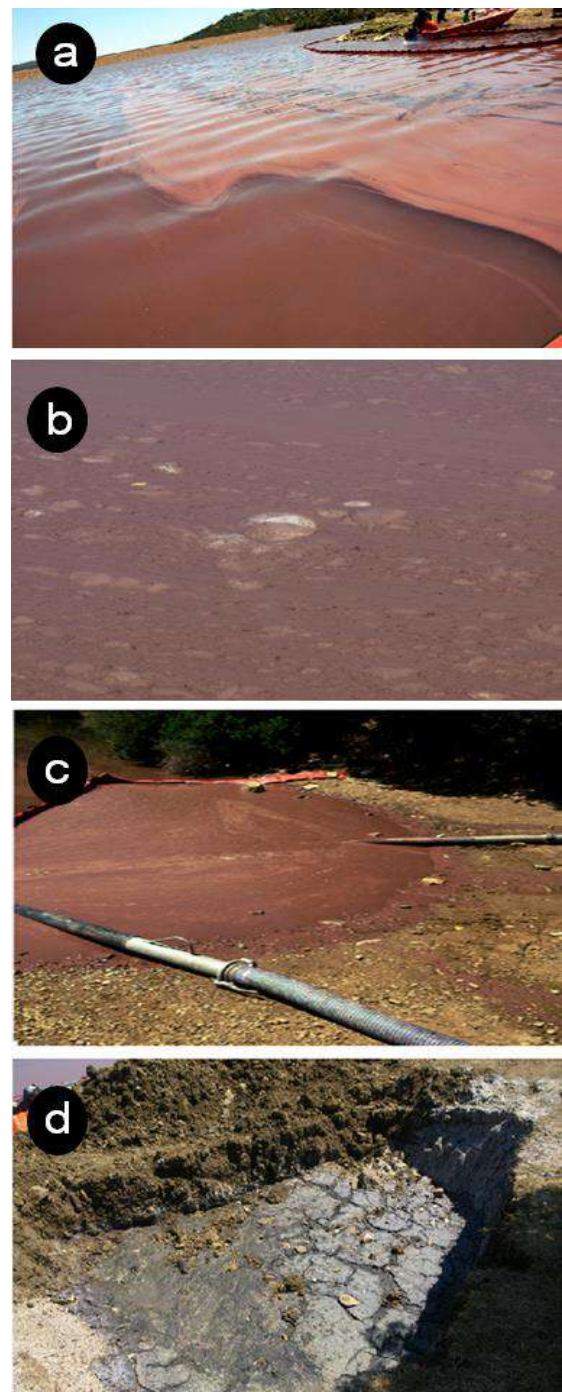


Figure 1. Efflorescence à *Planktothrix rubescens* dans la retenue Hammam Debagh. b) photo prise lors de la senescence du « bloom », c-d) « Bank-filtration » effectué afin de réduire la densité de *P. rubescens* en surface. Photos prises lors de l'expertise effectuée par le groupe de travail chargé de l'étude des cyanobactéries dans le laboratoire EMMAL-UBMA.

des écosystèmes profonds tels que les grands lacs alpins où elle se développe en profondeur pendant une grande partie de l'année (Jacquet *et al.*, 2005 ; Jann-Para *et al.*, 2004 ; Ernst *et al.*, 2009; Fastner *et al.*, 1998 ; Micheletti *et al.*, 1998). Il était donc intéressant de comparer l'écologie de cette espèce dans notre réservoir et dans ces grands lacs alpins.

De plus, il était également intéressant d'étudier la cohabitation entre *P. rubescens* et *Microcystis wasenbergii* qui est également capable de proliférer dans la retenue de Hammam Debagh. En effet, ces deux espèces occupent habituellement des écosystèmes différents et elles ne se trouvent donc pas en situation de compétition telle que nous avons pu l'observer.

Le troisième objectif de la thèse était de mieux connaître l'évolution de la production de cyanotoxines et de déterminer si le risque toxique était lié à la biomasse des cyanobactéries.

Par ailleurs, d'un point de vue plus fondamental, nous nous sommes intéressés aux communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dans ce plan d'eau afin de déterminer, par exemple, s'il existe des interactions positives (type échange de N et de C) entre bactéries et cyanobactéries qui permettraient de mieux comprendre la dynamique de ces dernières. Nous avons également comparé les résultats obtenus dans la retenue Hammam Debagh avec ceux obtenus dans un site plus pollué et complètement différent par sa configuration (e.g. peu profond, plus grande superficie) mais aussi son niveau trophique hypereutrophe, le lac Oubeira.

Pour répondre à ces objectifs tout en tenant compte de l'absence de travaux antérieurs sur les cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh, nous avons donc mis en place un suivi pluriannuel de la retenue et de ses communautés microbiennes. Nous avons également réalisé des prélèvements sur un cycle annuel dans le lac d'Oubeira. L'ensemble de ces suivis nous a permis de tenté d'apporter des réponses aux questions suivantes :

1. Quelles sont les espèces qui constituent les communautés des cyanobactéries dans le réservoir Hammam Debagh ?
2. Quelle est la dynamique annuelle des proliférations des deux cyanobactéries dominantes (*P. rubescens* et *Microcystis sp.*) dans le réservoir Hammam Debagh ?

3. Quels sont les principaux facteurs et processus environnementaux qui contrôlent la cohabitation et la compétition entre *P. rubescens* et *Microcystis* sp. ?
4. Quel est le potentiel toxique des cyanobactéries peuplant le réservoir Hammam Debagh ?
5. Comment évoluent la structure et la composition des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dans le réservoir Hammam Debagh et dans le Lac Oubeira ?

Ces questions s'inscrivent à la fois dans une démarche scientifique permettant une contribution aux travaux de recherche sur l'écologie des cyanobactéries, et d'un point de vue appliqué, l'ensemble de nos données permettra de proposer des mesures pour mieux surveiller et mieux gérer les plans d'eaux soumis à des proliférations de cyanobactéries.

Organisation du manuscrit

En tenant en compte des objectifs fixés et les questions posées précédemment, le manuscrit s'organise comme suit :

- Un premier chapitre dans lequel nous allons approfondir le contexte général de l'étude dans une brève synthèse bibliographique.
- Un second chapitre où nous allons décrire les sites d'études, leurs bassins versants ainsi que les stratégies et méthodes d'échantillonnage dans chacun des plans d'eau.
- Un troisième chapitre où il sera présenté i) la diversité génétique des cyanobactéries par une approche de séquençage massif (Illumina MiSeq) de l'ADNr 16S dans le réservoir Hammam Debagh ii) la dynamique spatio-temporelle de *Planktothrix rubescens* et de *Microcystis* sp. en surface et dans la colonne d'eau de ce réservoir, iii) les principaux facteurs et processus intervenant dans la cohabitation et la compétition entre ces deux espèces iv) le potentiel toxique des cyanobactéries de la retenue Hammam Debagh par un dosage des microcystines-LR.
- Dans le dernier chapitre nous étudierons les variations temporelles de la structure et la composition des communautés bactériennes associées aux

cyanobactéries dans le cadre d'une comparaison réalisée le lac Oubeira et le réservoir Hammam Debagh.

Introduction générale

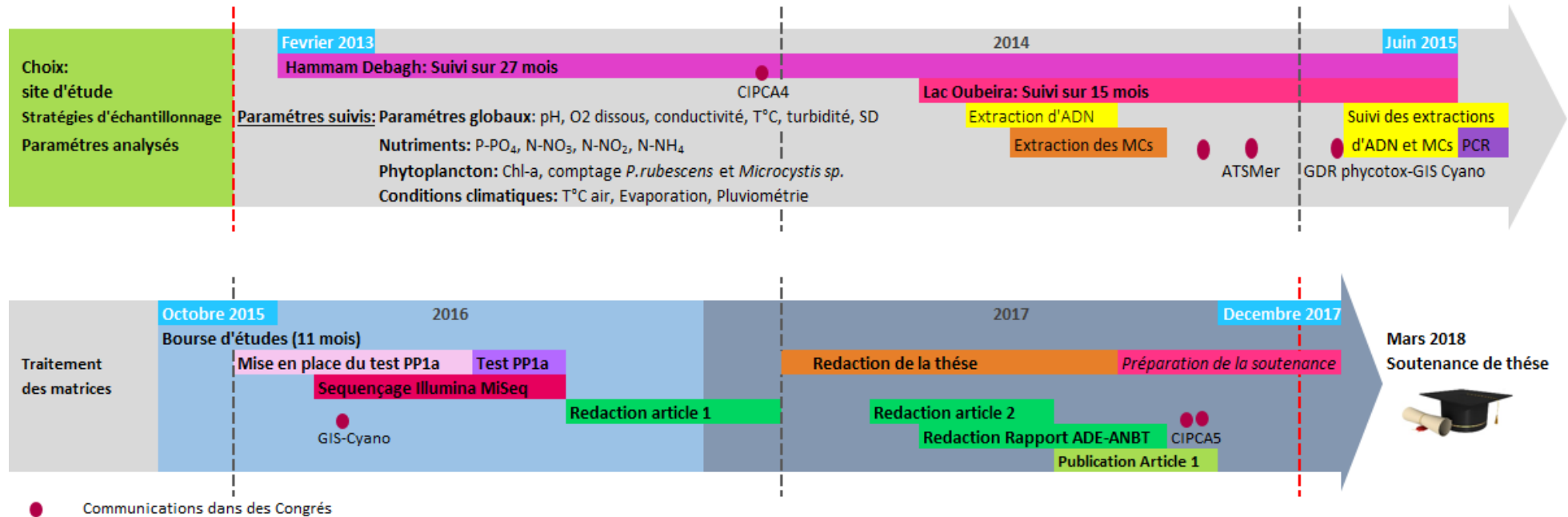


Figure 2. Frise chronologique du travail effectué au cours des années de thèse

Chapitre I. Généralités

1.1. Fonctionnement global des écosystèmes aquatiques

1.1.1. Différences entre un lac et un réservoir

Un lac correspond à une eau stagnante occupant une cavité en générale profonde contrairement aux étangs¹. Néanmoins, cette distinction n'est pas toujours très précise ; par exemple le lac Balaton, sans profondeur, est néanmoins un lac parce que la végétation reste confinée sur les bords (Vivier, 1934). Le terme réservoir quant à lui, s'applique aux masses d'eau formées ou modifiées par une activité humaine afin de fournir une ressource fiable et contrôlable (Thornton *et al.*, 1996). Ces lacs artificiels résultent d'une construction d'un barrage sur le chemin d'une rivière. De ce fait, ces plans d'eau combinent les caractéristiques des rivières et des lacs faisant apparaitre trois zones différentes (Fig.1) : i) une zone riveraine juste à l'embouchure de la rivière, ii) une zone lacustre proche du barrage iii) une zone de transition séparent les deux premières zones (Kimmel & Groeger, 1984).

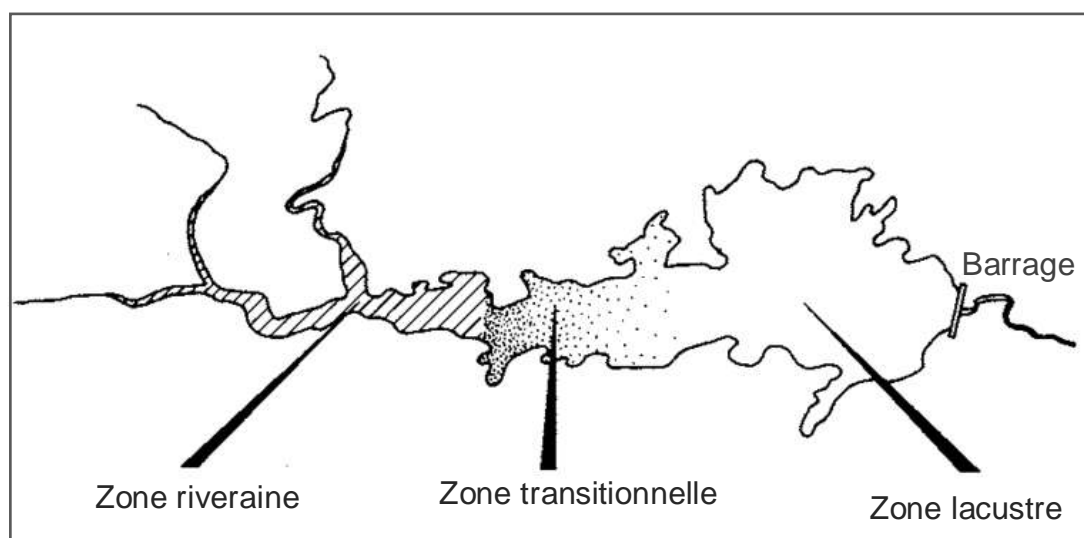


Figure 1. Zonation longitudinale dans un réservoir (modifié de Kimmel & Groeger, 1984)

¹ Un lac sans profondeur, qui peut être colonisé sur toute son étendue par la flore littorale d'un lac

1.1.2. Mise en place de la stratification thermique

La pénétration de la lumière dans un plan d'eau provoque un réchauffement de la surface. Dans les plans d'eau profonds, l'intensité de la lumière s'atténue à mesure que la profondeur augmente. Ce « chauffage par le haut » se traduit par le fait que des eaux chaudes et en l'occurrence plus légères flottent au-dessus des eaux froides qui sont plus denses. Ce processus définit la stratification thermique de la colonne d'eau. La présence/absence et l'intensité de cette structuration thermique est influencée par beaucoup de facteurs tels que la profondeur du plan d'eau (Bade, 2005), la quantité de la chaleur qui parvient au lac et donc de la latitude, de l'altitude et de la saison. Elle dépend ensuite, des vents (météorologie) qui peuvent provoquer des mélanges et de l'abri procuré par l'environnement (e.g. reliefs, végétation arborescente, constructions). Elle dépend enfin de l'importance relative de ce mélange des eaux de surface par rapport à l'ensemble de la masse d'eau, donc du caractère plus ou moins stagnant du plan d'eau (temps de séjour) et de la forme de sa cuvette (profondeur moyenne) (Barroin, 1999).

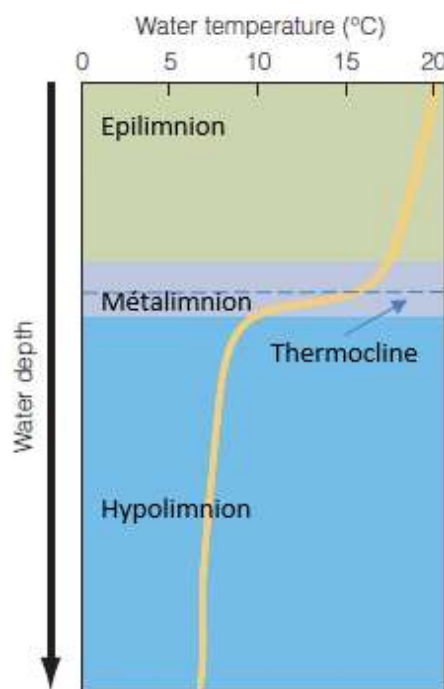


Figure 2. Variation du profil de température dans un lac stratifié

Ainsi, en fonction de leur stratification thermique, les couches verticales d'un lac sont définies comme suit (Fig. 2) :

- *Epilimnion*. La lumière en surface des lacs combinée avec les mouvements descendants de la masse d'eau provoqués par le refroidissement nocturne et surtout les vents créent une première couche d'eau homogène en surface du lac (Barroin, 1999). Cette masse d'eau est marquée par une température constante (Thomas *et al.*, 1996).

- *L'Hypolimnion* est la couche la plus profonde caractérisée généralement par une température plus basse que la surface et en l'occurrence une faible activité photosynthétique (Vivier, 1935).
- *Le Métalimnion* est la couche intermédiaire où les variations de la température sont les plus importantes. Le terme « thermocline » est souvent employé pour définir une surface fictive au sein du métalimnion où la variation de la température atteint son maximum (Barroin, 1999).

1.1.3. Classification des écosystèmes aquatiques

Le premier niveau de classification des lacs est défini par leur origine qui définit les lacs cotiers, riverains, tectoniques, fluviaux, volcaniques, ...etc (Jorgensen *et al.*, 2012.) mais cette classification est peu utilisée. Deux autres systèmes de classification sont universellement utilisés ; il s'agit de la classification selon les processus de circulation annuelle et la classification selon le niveau trophique (Thomas *et al.*, 1996).

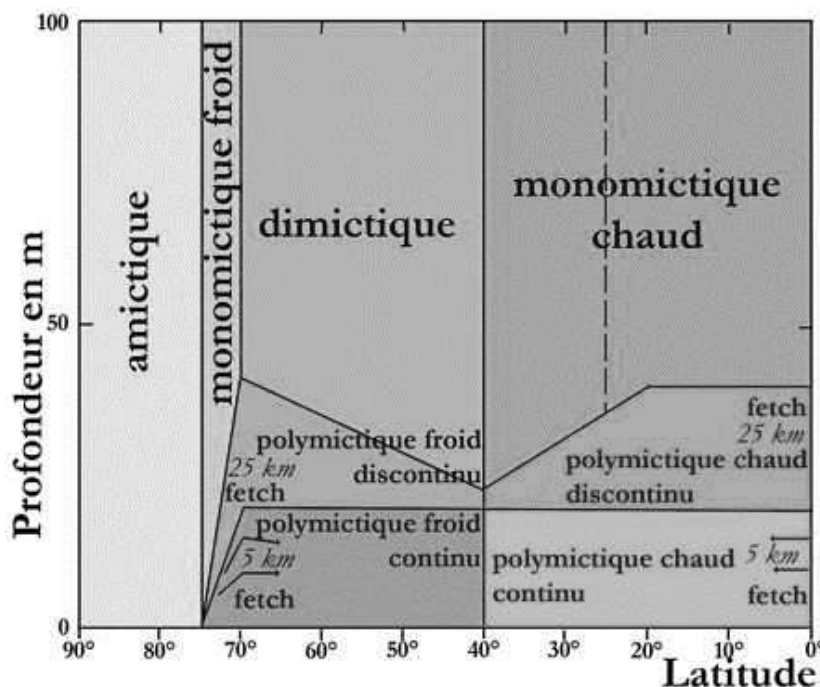
1.1.3.1. Classification selon les modèles de circulation annuelle

La circulation autrement nommée mélange est habituellement entraînée par le vent, et elle est facilitée lorsque la température est uniforme (ou presque uniforme) de haut en bas dans un lac donné (Kevern *et al.*, 1996). Le premier système de classification basé sur les variations thermiques a été proposé par Geistbek en 1885 qui faisait les distinctions entre lacs chauds et froids. Quelques années plus tard, Forel (1892) a établi une classification basée sur la zonalité climatique et le nombre de mélanges observés dans un lac donné qui devient par la suite la classification la plus répandue ; toutes les classifications apparues depuis n'étant que des modifications de la classification proposée par Forel (Skowron, 2008). Dans le cadre de la classification de Lewis (1983), les différents types de lacs observés à travers le monde sont (Fig. 3) :

- *Lacs amictiques*. Ces lacs ne présentent aucun mélange. Ce modèle concerne les régions polaires où les lacs sont glacés en permanence ($<4^{\circ}\text{C}$),
- *Lacs monomictiques*. Ces lacs présentent un seul mélange annuel en été ou en hiver, on distingue :
 - o *lacs monomictiques froids*. Ces lacs présentent un seul mélange annuel en été lors de la fonte des glaces (les températures n'excèdent

pas 4°C). C'est la caractéristique des lacs couverts de glace durant la plus grande partie de l'année dans les régions subpolaires.

- *Lacs monomictiques chauds*. Ces lacs se mélangent en hiver. Ils sont largement répartis entre les régions climatiques tempérées et tropicales (>4°C).
- *Lacs dimictiques*. Ces lacs présentent un mélange deux fois par an généralement au printemps et en automne. Ils se trouvent dans les latitudes tempérées fraîches.
- *Lacs polymictiques*. Ces lacs présentent une stratification thermique irrégulière au court de l'année. C'est la caractéristique des lacs peu profonds qui présentent de faibles variations saisonnières de la température. On distingue alors :
 - *Lacs polymictiques froids discontinus*
 - *Lacs polymictiques froids continus*
 - *Lacs polymictiques chauds discontinus*
 - *Lacs polymictiques chauds continus* (Skowron, 2008, Thomas *et al.*, 1996 ; Lewi, 1983).



¹ La distance de la course du vent sur le plan d'eau

1.1.3.2. Classification en fonction du niveau trophique

Le concept de niveau trophique a été établi par les premiers limnologues tels que Thienemann (1925, 1931) et Nauman (1932) avant d'être profondément modifié une cinquantaine d'années après (Thomas, 1996). Ce concept a permis de définir les relations entre le fonctionnement d'un écosystème aquatique et son bassin versant. En effet, les nutriments et les autres éléments chimiques provenant du bassin versant combinés à d'autres facteurs tels que la température et la lumière affectent la production primaire et les abondances du phytoplancton. Cette production primaire à son tour affecte la structure biologique de l'écosystème (Simpson, 1996). Ainsi, le système de classification actuel repose principalement sur une caractérisation des nutriments (P total et N total) et la biomasse phytoplanctonique (exprimée en chlorophylle-a) mais aussi de la transparence de l'eau et son oxygénation. On distingue alors des :

- *Lacs oligotrophes*. qui sont caractérisés par une faible production primaire et une faible biomasse phytoplanctonique associée à des concentrations limitées en nutriments (N et P). Ces lacs ont tendance à être saturés d'O₂ dans toute la colonne d'eau.
- *Lacs mésotrophes* sont difficiles à caractériser et sont généralement des lacs en transition entre l'oligotrophisation et l'eutrophisation. Dans ces lacs, les concentrations en chlorophylle sont plus élevées et ils se caractérisent par une diminution en concentrations d'oxygène dans l'hypolimnion en été.
- *Lacs eutrophes*. Ces lacs présentent des concentrations élevées en nutriments et une importante biomasse phytoplanctonique associées à une faible transparence de l'eau. Les concentrations en oxygènes peuvent être au-dessous de 1 mg L⁻¹ dans l'hypolimnion pendant la stratification thermique en été.
- *Lacs hypereutrophes*. Ils présentent des concentrations extrêmement élevées en nutriments et en biomasse phytoplanctonique associée. Des conditions d'anoxie sont observées dans l'hypolimnion en été lors de la stratification thermique, cette anoxie pouvant gagner toute la colonne d'eau en été.
- *Lacs dystrophes*. Ce sont des lacs très riches en éléments organiques (acide humique et fluviatique) et en matière organique provenant des apports du bassin versant (Kever *et al.*, 2011; Tomas, 1996).

1.2. Les cyanobactéries

1.2.1. Diversité des cyanobactéries

1.2.1.1. Approches morphologique versus génétique

Ce groupe bactérien est très hétérogène du point de vue des formes rencontrées puisque l'on distingue : i) des formes cellulaires cocoïdes solitaires ou en colonies à ovoïdes (ex. *Synechococcus*, *Microcystis*); ii) des formes filamenteuses non fixatrices d'azote (N₂) le plus souvent (ex. *Oscillatoria*, *Planktothrix*) ; iii) des filaments avec des cellules différenciées pour la fixation de l'azote atmosphérique appelées hétérocytes (ex. *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Nodularia*). En plus des hétérocytes, les cyanobactéries peuvent différencier un autre type de cellules appelées akinètes qui sont des cellules de résistance lorsque les conditions environnementales sont défavorable à la croissance des filaments (Paerl *et al.*, 2014).

La caractérisation traditionnelle des cyanobactéries en utilisant des méthodes conventionnelles basées sur des caractéristiques morphologiques *stricto sensu* est très difficile puisque la différenciation des espèces est limitée (Bittencourt-oliveira *et al.*, 2001). De ce fait, l'apparition de nouveaux outils de la caractérisation des taxons tels que la microscopie électronique et les méthodes génétiques ont marqué un virage dans la systématique des cyanobactéries et ont longtemps animé le débat par exemple sur la question si ces microorganismes sont des bactéries ou des algues en prenant comme arguments l'absence d'un noyau délimité par une membrane cytoplasmique ou encore la présence des pigments chlorophylliens. La classification des cyanobactéries a beaucoup évolué depuis le premier système de classification adopté par Gomont (1892) et Bornet & Flahault 1886-1888. Ces microorganismes sont actuellement répertoriés dans deux systèmes de classifications différents : Le code international de nomenclature bactériologique (I.C.N.B.) (Lapage *et al.*, 1992) et le code international de nomenclature botanique (I.C.B.N.) (Greuter *et al.*, 1994).

Rippka *et al.* (1979) a recommandé 5 sous-sections qui sont devenues par la suite la base de la classification proposé dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Castenholz, 2001) qui définit 5 sous-sections au lieu d'ordres : I (= Chroococcales), II (= Pleurocapsales), III (= Oscillatoriales), IV (= Nostocales) et V (= Stigonematales).

Le succès de l'approche moléculaire dans la caractérisation des cyanobactéries a immergé ces dernières années avec la possibilité de retracer l'histoire évolutive de ces

microorganismes. Parmi les marqueurs phylogénétiques les plus utilisés, le gène qui code pour la petite sous unité de l'ARNr est le plus utilisé (Neilan *et al.*, 1995 ; Větrovský & Baldrian, 2013 ; Hoffman *et al.*, 2005 ; Nübel *et al.*, 1997; Crosbie *et al.*, 2003). Néanmoins, certains chercheurs ont signalé l'insuffisance de la variabilité de l'ADNr 16S pour l'analyse phylogénétique au niveau de l'espèce et ont proposé en conséquence, l'utilisation d'autres régions plus variables telles que la région intergénique 16S-23S (ITS) ou encore la région intergénique du locus de la phycocyanine (IGS) (Giovannoni *et al.*, 1990 ; Premanandh *et al.*, 2006 ; Otsuka *et al.*, 1999 ; Case *et al.*, 2007).

Actuellement, nous assistons à de nombreux changements dans la systématique et la taxonomie des cyanobactéries. En effet, depuis les années 2000, plus de 50 genres de Cyanobactéries ont été décrit et 16 autres potentiellement nouveaux ont été proposés en 2013. A ceci s'ajoute de nombreuses propositions de réorganisations taxonomiques (Otsuka *et al.*, 2001 ; Komárek *et al.*, 2013-2014). Récemment Komárek *et al.* (2014) ont proposé une classification des cyanobactéries organisée en huit ordres. Cette dernière classification repose sur une approche polyphasique faisant appel à des informations moléculaires, biochimiques et microscopiques. Par ailleurs, cette classification constitue une continuité des recherches du 19^{ème}, 20^{ème} et 21^{ème} siècles et n'écarte pas la classification morphologique (Fig. 4).

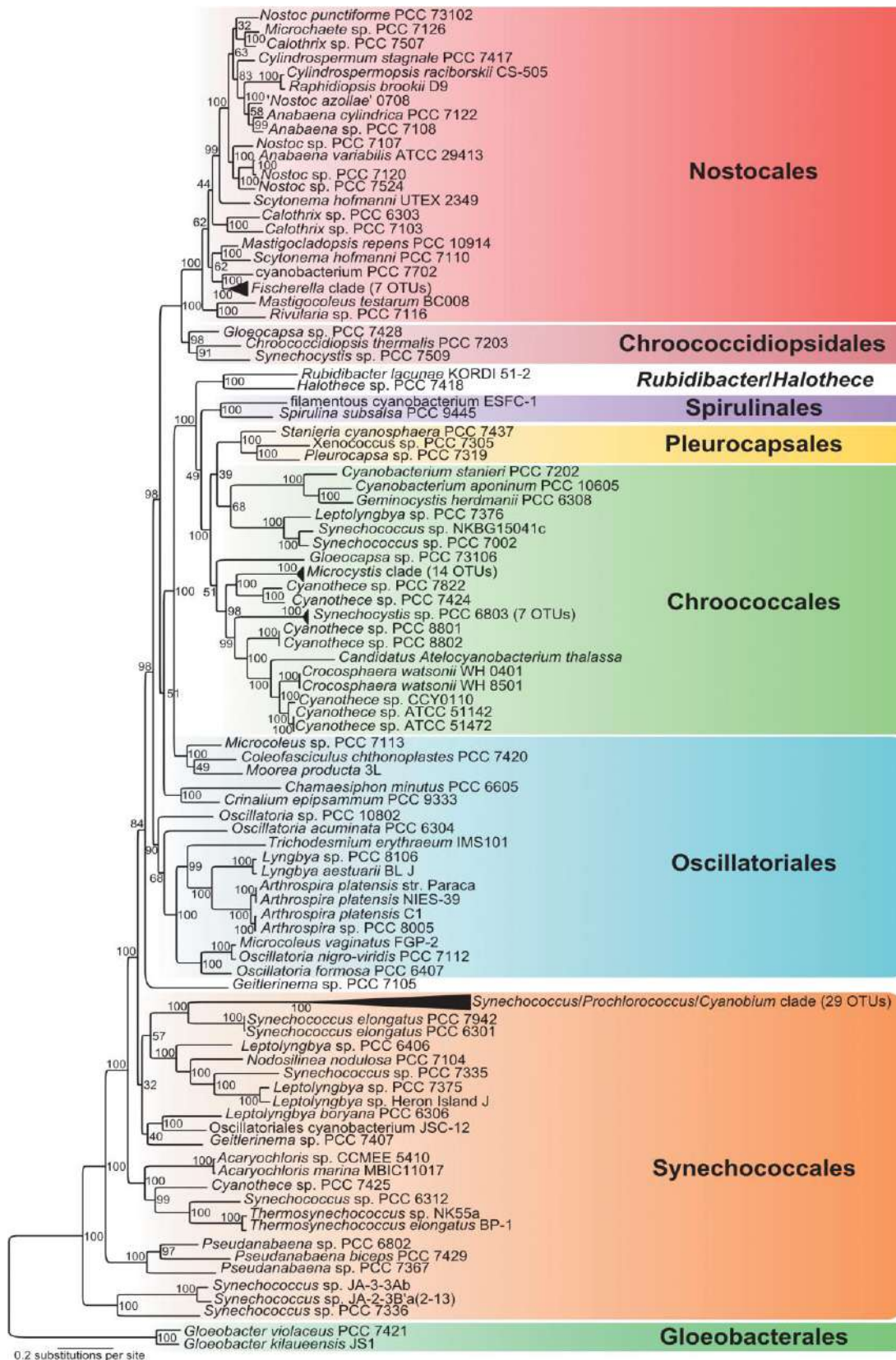


Figure 4. Arbre phylogénétique basé sur 21 protéines conservées comprenant les plus récents changements dans la classification des cyanobactéries (Komárek et al., 2014)

1.2.1.2. Approches fonctionnelles

Les espèces dans une communauté peuvent avoir des rôles écologiques similaires, révélant ainsi une «redondance» dans les fonctions écologiques. Ces caractéristiques écophysiologiques ou « traits fonctionnels » sont à l'origine des réponses de ces microorganismes aux conditions environnementales auxquelles ils sont soumis. De ce fait et dans le but de simplifier potentiellement la réelle complexité des écosystèmes, les écologistes ont regroupé les organismes ayant des caractéristiques écologiques similaires (Salmaso *et al.*, 2015).

La longue histoire évolutive des cyanobactéries témoigne d'une adaptation écophysiologique en combinaison avec suffisamment de temps pour une diversification structurelle et fonctionnelle de ces microorganismes (Paerl *et al.*, 2014). Par ailleurs, l'étude des caractéristiques fonctionnels permet une comparaison entre les écosystèmes à l'échelle globale et une prédiction des changements dans la structure des communautés en réponse aux changements environnementaux (Salmaso *et al.*, 2015).

La première classification fonctionnelle (FG) du phytoplancton a été établie en 1980 par Reynolds et complétée en 2002 par ce même auteur (Reynolds, 1980 ; Reynolds *et al.*, 2002). Cette approche formée de 31 groupes s'est basée essentiellement sur les caractéristiques des habitats et non sur les critères fonctionnels des espèces. Depuis, deux autres approches ont été proposées (Tableau 1) : i) l'approche morpho-fonctionnelle (MFGs) qui elle définit sept groupes (Salmaso & Padisák, 2007) et qui est basée essentiellement, comme son nom l'indique, sur des critères morphologiques (i.e. le volume et la surface cellulaire, le rapport entre surface et volume, la dimension linéaire maximale, la présence de flagelles, la présence d'aérotopes, la présence d'un exosquelette en silice et la production de mucilage). ii) l'approche morphologique (MBFGs) qui a été proposé dans le but de simplifier la classification, elle a été utilisé principalement dans les écosystèmes turbides, peu profonds. La comparaison entre toutes ces approches a montré que l'approche fonctionnelle et l'approche morpho-fonctionnelle sont les plus sensibles tandis que l'approche morphologique sous-estime la lumière dans les milieux peu profonds et ne peut pas interpréter la richesse des espèces en détail car elle conserve tous les taxons de diatomées dans un seul groupe

et peut donc produire un biais lorsque ceux-ci sont corrélés aux paramètres environnementaux (Abonyi, 2014).

Tableau 1. Chevauchements théoriques et différences morphologiques entre les trois classifications fonctionnelles du phytoplancton les plus fréquemment utilisées : MBFGs (morphology-based functional classification), MFGs (morpho-functional classification), FGs (Functional classification) ; (d'après Abonyi, 2014)

MBFGs	Morphology in MBFGs	MFGs	Morphology in MFGs	Further morphological subclasses in MFGs	FGs
I	Small organisms with high <i>SV</i>	4	Unicellular Cyanobacteria	Unicellular Cyanobacteria	Z
		5	Colonies Cyanobacteria	5d Small Chroococcales colonies	Z, Z _{MS} , K, L ₀
		9	Small other unicellular	9a Small unicells (Conjugatophytes) 9b Small unicells (Chlorococcales) 9d Small unicells (Other groups)	N, N _A , X3 X3, X1, J
II	Small flagellated organisms with siliceous exoskeletal structures	2	Small (unicellular)	2a Small Chrysophytes/Haptophytes 2b Small Dinophytes 2c Small Euglenophytes 2d Cryptophytes	X3, X2, E L ₀ W1, W2 X2, Y, X2, XPh, W ₀
		3	Phytomonadina	3a Unicellular Phytomonadina 3b Colonial Phytomonadina	G, W1, W ₀ X3, X1
		9	Other small unicellular	9c Small Chrysophytes	MP, S1, S2, R
		5	Colonial (Filamentous) Cyanobacteria	5a Thin filaments (Oscillatoriales) 5c Nostocales	MP, SN, H1, H2
		5	Colonial (Filamentous) Cyanobacteria	5a Thin filaments (Oscillatoriales) 5c Large colonies, mostly non-vacuolated Chroococcales	MP, TC TC, K, L ₀
III	Large filaments with aerotopes	5	Colonial (Filamentous) Cyanobacteria	8a Large unicells (Conjugatophytes/Chlorophytes)	P, T _D , X3, X1
		8	Other large unicellular	8b Large unicells (Other groups)	
		10	Other Filaments	10a Filaments (Chlorophytes) 10b Filaments (Conjugatophytes)	T _D N, P, MP, T, T _D
		10	Other Filaments	10c Filaments (Xanthophytes)	
		11	Non filamentous colonies	11a Chlorococcales (Naked colonies) 11c Other colonies	X1, J, K
V	Unicellular flagellates of medium to large size	1	Large (colonial or unicellular)	1a Large Chrysophytes/Haptophytes 1b Large Dinophytes	E, U, WS, Q Z _{MS} , Y, L _{MS} LM
		6	Large Diatoms	1c Large Euglenophytes 6a Large Centrics 6b Large Pennates	W1, W2 A, B, C, D, P A, C, D, N, P, MP, T _D , T _B
VI	Non-flagellated organisms with siliceous exoskeletons	6	Large Diatoms	7a Small Centrics	A, B, C, D
		7	Small Diatoms	7b Small Pennates	D, MP, T _D , T _B
VII	Large mucilaginous colonies	5	Cyanobacteria colonies	5b Large vacuolated Chroococcales	L ₀ , L _M , M
		11	Other non filamentous colonies	11b Chlorococcales (Gelatinous colonies)	F

1.2.2. Développement des blooms de cyanobactéries et contraintes

Dans les écosystèmes aquatiques continentaux, une importante réduction de la diversité spécifique dans le compartiment phytoplanctonique peut être observée en parallèle à une augmentation importante de la biomasse des cyanobactéries (Konopka *et al.* 1999 ; Casamayor *et al.* 2000, 2002 ; Cao *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2012). A ce jour, il n'existe pas une définition internationale ou une quantification de ce phénomène qualifié d'efflorescence ou « bloom » selon les anglo-Saxons (Merel *et al.*, 2013). Ainsi, malgré les nombreuses études qui existent, il est encore difficile dans un écosystème donné de cerner les facteurs environnementaux menant à ce phénomène et encore plus de difficultés à faire des prédictions sur leur survenue et sur leur durée (Taranu *et al.*, 2012).

Les blooms de cyanobactéries sont le plus souvent formés par une ou deux espèces qui prolifèrent sur une durée allant de quelques jours à quelques mois (Reynolds, 1987). Ces proliférations causent de sérieux problèmes : i) d'un point de vue écologique, les fortes densités cellulaires atteintes par les cyanobactéries (Fig. 5) lors des blooms (plusieurs millions cellules/ml) entraînent des perturbations dans les écosystèmes notamment à travers une réduction de la transparence de l'eau et en l'occurrence limitent l'accès à la lumière (De Figueiredo *et al.*, 2006). Parallèlement, l'excès de matière organique en surface conduit à une augmentation de la respiration et à l'épuisement du stock d'oxygène dissous dans la zone profonde. Cet épuisement peut conduire à l'hypoxie ($[O_2] < 2 \mu\text{g L}^{-1}$), causant l'asphyxie ou la mort des organismes (Jenny, 2013 ; Watson *et al.*, 2016). ii) D'un point de vue sanitaire, la prolifération massive de certains genres (filamenteux et cocoides) entraîne la synthèse de métabolites secondaires toxiques pour les consommateurs allant du zooplancton à l'Homme en passant par les poissons et autres mammifères (Paerl *et al.*, 2014 ; Amrani *et al.*, 2014; Nasri *et al.*, 2008). iii) D'un point de vue économique, ces proliférations représentent une contrainte pour les gestionnaires d'écosystèmes utilisés pour l'approvisionnement en eau potable en raison des molécules malodorantes (e.g geosmine) et des toxines produites par les cyanobactéries (Watson *et al.*, 2016 ; Carmichael & Boyer, 2016) mais aussi en raison des quantités importantes de carbone organique générées lors des proliférations qui peuvent causer le colmatage des filtres.

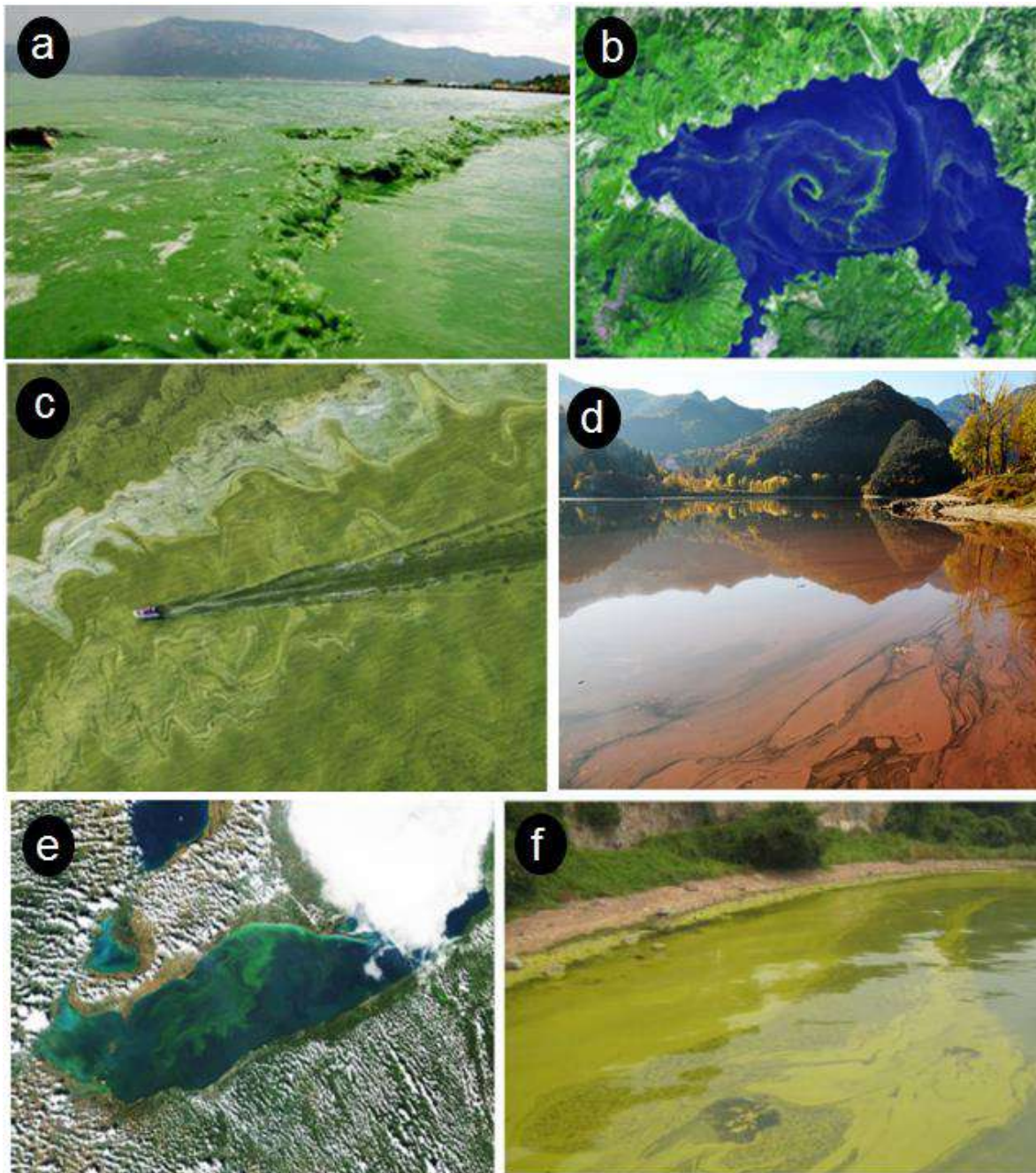


Figure 5. Vues de blooms de cyanobactéries. a) Bloom d'*Aphanizomenon* sp. au lac Dianchi, Chine; b) Bloom de *Lyngbia* au lac Atitlan, Guatemala (Paerl & Otten, 2013) ; c) Vu aérienne d'un bloom dominé par *Microcystis* au lac Erie, USA (Paerl et al., 2014); d) Bloom de *Planktothrix rubescens* au lac Ledro, Italie (Phycokey-Oscillatoria images) ; e) *Microcystis* au Lac Erie, USA–Canada (NASA MODIS) (Paerl & Otten, 2013) ; f) Vue d'un bloom dominé par *Microcystis* au lac Taihu (Paerl et al., 2014).

1.2.3. Avantages adaptatifs et déterminisme environnementale

1.2.3.1. Stratégies du succès compétitif des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont parmi les plus anciens organismes vivants sur la terre, leur existence via la formation de stromatolithes date d'environ 3milliards années (Byerly *et al.*, 1986 ; Fostner *et al.*, 2009 ; Pepe-Ranney *et al.*, 2012). En effet, leurs prolifération durant la période précambrienne a été associée avec l'enrichissement de l'atmosphère terrestre en oxygène, leur conférant un rôle majeur dans l'évolution de la vie sur la planète terre (Knoll, 2003 ; Sciuto *et al.*, 2015). Ces microorganismes utilisent un ensemble de stratégies qui leurs permettent de coloniser tous les écosystèmes et de résister aux conditions extrêmes à l'exemple de la vie dans des sources thermales chaudes (Amarouche Yala *et al.*, 2014). Différentes capacités et stratégies développées par les cyanobactéries leurs permettent d'avoir un succès compétitif au sein des communautés phytoplanctoniques à l'exemple :

- o la **migration « active »**¹ dans la colonne d'eau de certaines espèces ; qui peuvent réguler leurs flottaison soit en modifiant le taux de formation de vacuoles gazeuses par rapport à la croissance cellulaire, soit en modifiant l'accumulation d'hydrates de carbone et de protéines lors de la photosynthèse (Konopka *et al.*, 1993 ; Oliver & Ganf, 2000). Ceci leurs permet de lutter contre les intensités lumineuses élevées en surface et d'exploiter les nutriments qui se trouvent en plus grandes concentrations en profondeur.
- o La **résistance à la prédation** constitue une des stratégies contribuant au succès des cyanobactéries. En effet, celles-ci peuvent synthétiser des composés allélopathiques (métabolites secondaires) qui jouent un rôle important dans la formation et la disparition des blooms mais aussi dans la succession des espèces (Vardi *et al.*, 2002 ; Smayda, 1997). D'autres métabolites secondaires peuvent être toxiques vis-à-vis des microorganismes compétiteurs ; Leflaive & Ten-Hage, (2007) rapporte que les cyanobactéries sont les seules à produire des toxines en eaux douce. La taille des cyanobactéries peut également leurs permettre d'éviter les pressions de prédatons. Ainsi, les colonies volumineuses et les longs filaments peuvent leur permettre d'éviter la prédation par le zooplancton (Ger *et al.*, 2014).

¹ En opposition à la migration dite « passive » où les cyanobactéries sont emportées par le vent ou le mouvement des masses d'eau.

- Grâce à la diversité et la flexibilité de leurs composition en pigments photosynthétiques, les cyanobactéries peuvent avoir différentes couleurs leurs permettant d'exploiter le rayonnement solaire disponible sur une plus grande étendue de longueurs d'ondes (Grossman *et al.*, 2001). Par exemple, des espèces ayant comme pigment majoritaire la phycoérythrine (ex. *Planktothrix rubescens*) peuvent croître dans de faibles intensité lumineuses et peuvent donc occuper des couches profondes de la colonne d'eau (Jacquet *et al.*, 2014 ; 2005).
- En conditions de carences, les cyanobactéries peuvent avoir un avantage compétitif par rapport à d'autres microorganismes grâce à la mobilisation de l'azote atmosphérique fixé par les hétérocytes et des réserves de phosphore accumulées sous forme de granules de polyphosphates (Paerl *et al.*, 2001 ; Wacklin, 2006). Dans ces conditions, les cyanobactéries ont la capacité d'excréter des sidérophores ; ces composés sont capables de modifier la spéciation chimique d'un élément pour le remobiliser et augmenter ainsi sa biodisponibilité (e.g. le fer) ou encore pour réduire sa toxicité (e.g. le cuivre) (Rueter & Petersen, 1987).

Les stratégies citées ci-dessus ne sont pas exhaustives, beaucoup d'autres ont été exploré dans la littérature. Cependant, même si la liste des stratégies et facteurs environnementaux répertoriés est longue Merel *et al.* (2013) ont rapporté que la formation des blooms de cyanobactéries est régulée généralement par la combinaison de trois principaux facteurs qui sont : la température de l'eau, l'intensité lumineuse et la disponibilité des nutriments. Parallèlement, Taranu *et al.* (2012) ont établi que l'importance relative des nutriments et des variables climatiques dans la mise en place d'un bloom diffèrent en fonction des types de lacs par rapport au mélange. Ainsi, les cyanobactéries dans les lacs dimictiques sont fortement dépendantes de la stabilité de la colonne d'eau ce qui n'est pas le cas pour les lacs polymictiques. En contraste, les espèces qui tolèrent les fortes turbulences de la colonne d'eau dans les lacs polymictiques (*Planktothrix agardhii*) seraient plus fortement dépendantes de la concentration des nutriments.

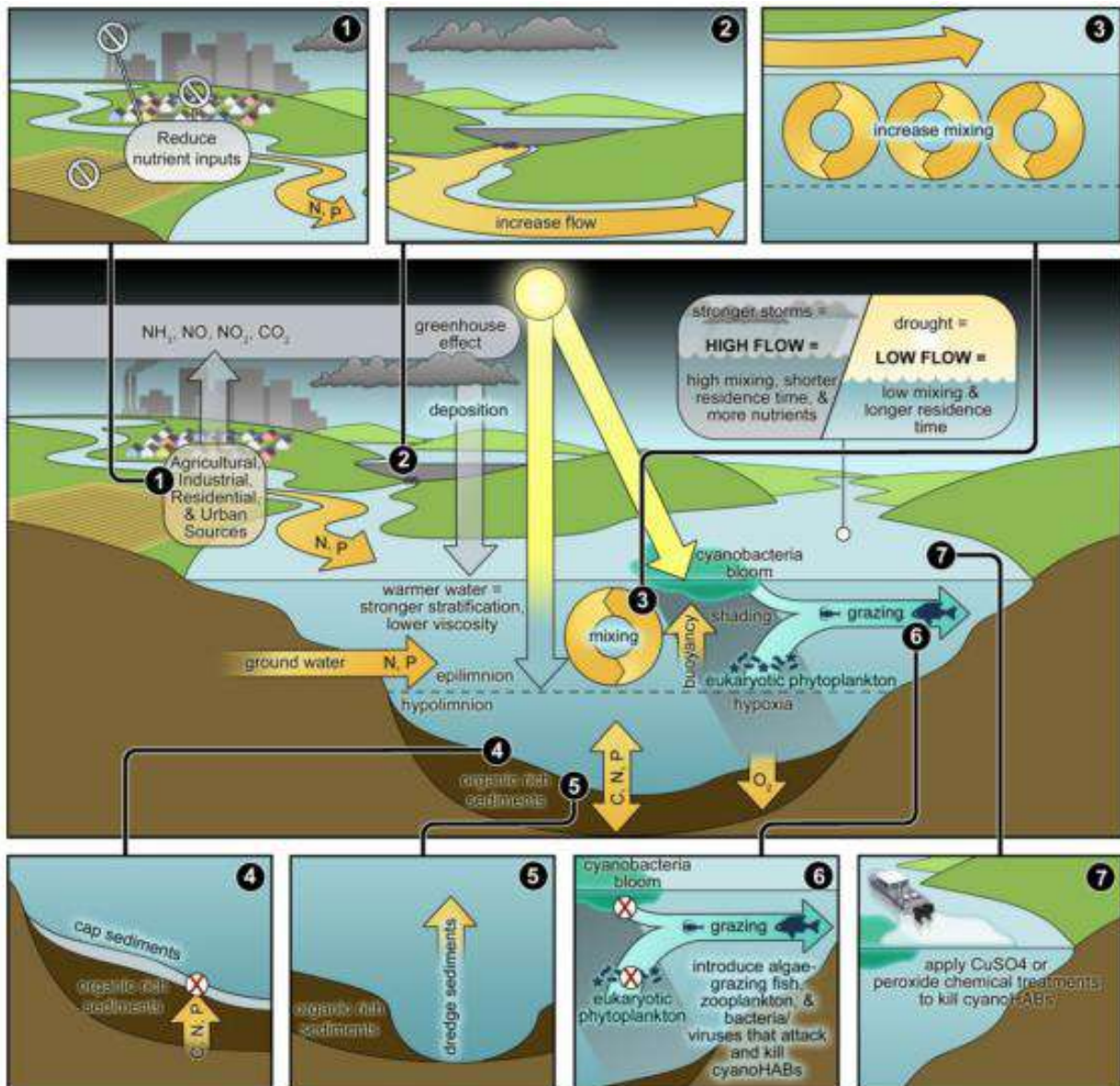


Figure 6. Schéma conceptuel illustrant les différents facteurs environnementaux et écologiques externes et internes qui contrôlent la croissance, l'accumulation (blooms) et le devenir des cyanobactéries dans les écosystèmes aquatiques. Les facteurs peuvent agir individuellement ou de façon combinée. On y trouve également les différentes techniques et stratégies appliquées afin de contrôler/éliminer les CyanoHAB, en fonction de la manipulation de leurs exigences écologiques et de l'interférence avec leurs stratégies de croissance (Paerl *et al.*, 2014).

1.2.3.2. Efflorescences des cyanobactéries versus eutrophisation

L'eutrophisation est très fortement associée aux blooms de cyanobactéries. Ce phénomène qui lorsqu'il est naturel se développe sur une période de temps très longue, s'accélère considérablement en raison de l'impact des activités anthropiques (Chorus & Mur, 1999 ; Dorioz *et al.*, 2004). En effet, l'augmentation croissante des concentrations en phosphore (P) et/ou en azote (N) sont liées à l'intensification des activités humaines telles que l'utilisation des engrais d'une part et les eaux usées municipales et industrielles d'autre part. En 1970, Schindler (1974) a établi que le phosphore était le principal nutriment, sachant que l'azote est très souvent le second élément limitant la croissance du phytoplancton.

De ce fait, les blooms récurrents de cyanobactéries ont été corrélés avec un enrichissement en nutriments de nombreux lacs, réservoirs, rivières et estuaires à travers le monde notamment dans les plus grands écosystèmes d'eau douce tels que le lac Victoria (Afrique), le lac Erie et le lac Michigan (US-Canada), le lac Okeechobee (Floride, USA), le lac Ponchartrain (Louisiane, USA), le lac Taihu (Chine) (Paerl *et al.*, 2014).

1.2.3.3. Impact du réchauffement climatique

Récemment, l'implication des changements globaux et principalement le réchauffement climatique a suscité beaucoup d'attention de la communauté scientifique. Selon le rapport de la GIEC (2014), une élévation, avec une tendance linéaire, de la moyenne globale des données de température de surface combinant les terres émergées et les océans indique un réchauffement de 0,85 [0,65 à 1,06]°C au cours de la période 1880–2012. En effet, le réchauffement climatique est le plus souvent cité en seconde position après l'eutrophisation comme processus responsable de l'augmentation de l'apparition des blooms de cyanobactéries (Paerl *et al.*, 2009 ; 2011 ; 2016) ; il s'avère

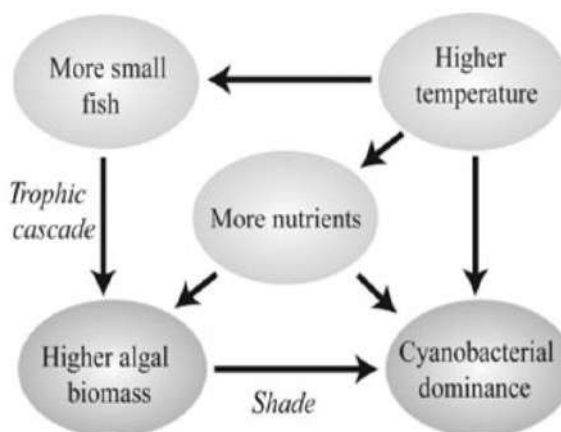


Figure 7. Relations entre le réchauffement climatique et la probabilité qu'une communauté de phytoplancton soit dominée par les cyanobactéries (d'après Kosten *et al.*, 2012).

même que l'eutrophisation est accentuée par le réchauffement climatique (Huber *et al.*, 2012) (Fig. 7).

De nombreuses études ont rapporté que le réchauffement climatique affecte la dynamique saisonnière des communautés phytoplanctoniques et favorise l'installation de plus en plus précoce des blooms de cyanobactéries (Jónasson & Kristiansen, 1967 ; Edwards & Richardson, 2004 ; Winder & Schindler, 2004 ; Peeters *et al.* 2007 ; Tadonlélé, 2010). Le réchauffement de l'eau permet en effet (i) d'augmenter la durée de la stratification thermique ce qui est favorable aux cyanobactéries et (ii) d'augmenter le taux de croissance des cyanobactéries et donc leur fitness.

Reynolds & Walsby (1975) suggèrent que l'optimum de croissance des cyanobactéries se situe à des températures variant entre 25 et 35 °C (Fig. 8). A tout ceci s'ajoute, le fait que l'augmentation de la température entraîne une déplétion des nutriments de la surface, ce qui rend difficile l'accès aux nutriments par les classes phytoplanctoniques autre que les cyanobactéries (voir 1.2.3.1.). Il est largement suggéré que le réchauffement climatique conduit à une altération du control « top-down » par les organismes brouteurs (Kosten *et al.*, 2012).

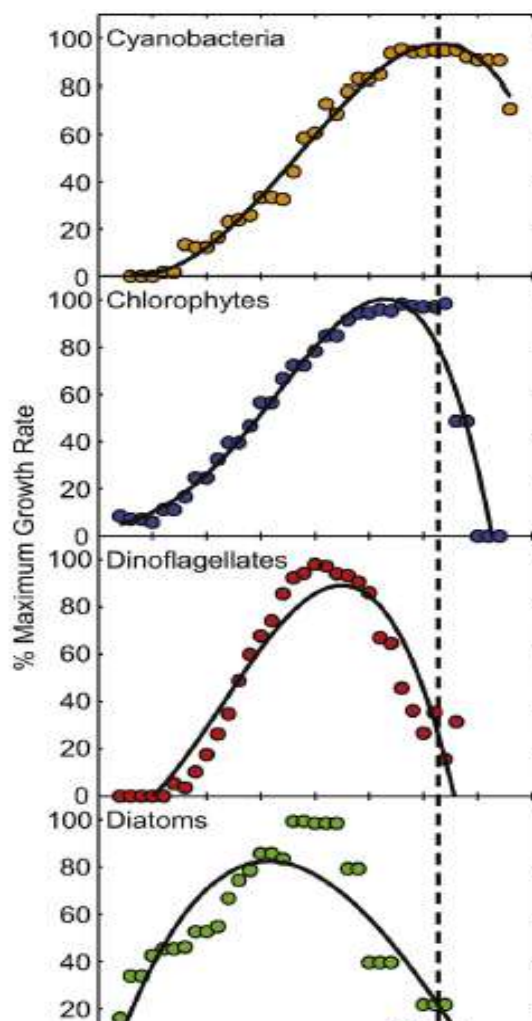


Figure 8. Les relations entre la température et les taux de croissance spécifiques des cyanobactéries et de trois différents groupes taxonomiques du phytoplancton eucaryote (chlorophytes, dinoflagellés et diatomées). (d'après Paerl *et al.*, 2016)

1.2.3.4. Toxines produites par les cyanobactéries

Les cyanobactéries synthétisent un large éventail de métabolites secondaires dont certaines sont toxiques pour l'homme et l'animal (Cheung *et al.*, 2013 ; Azevedo *et al.*, 2002 ; Vasconcelos, 1995). Ces molécules de diverses natures chimiques (petits peptides, alcaloïdes, ou lipopolysaccharides) sont synthétisées par plusieurs genres (Tableau 2) et sont classées habituellement selon leur mode d'action en trois catégories : les hépatotoxines (i.e. microcystines, nodularines, cylindrospermopsines), les neurotoxines (e.g. anatoxines, saxitoxines et la β -N-méthylamino-L-alanine ou BMAA) et les dermatotoxines (e.g. lyngbyatoxine A, aplysiatoxines) (Chorus & Bartram, 1999 ; Merel *et al.*, 2013).

Tableau 2. Genres de cyanobactéries et les toxines qui leurs sont associées (d'après Cheung *et al.*, 2013)

Type de toxines	Genres de cyanobactéries
<i>microcystines</i>	<i>Anabaena, Aphanocapsa, Hapalosphon, Microcystis, Nostoc, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
<i>nodularines</i>	<i>Nodularia spumigena</i>
<i>saxitoxines</i>	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbia</i>
<i>anatoxines</i>	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
<i>cylindrospermopsines</i>	<i>Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Umezakia</i>
<i>LPS</i>	<i>Aphanizomenon, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
<i>lyngbiatoxines</i>	<i>Lyngbia</i>
<i>BMAA</i>	<i>Anabaena, Cylindrospermopsis, Microcystis, Nostoc, Planktothrix (Oscillatoria)</i>

Au sein des hépatotoxines, les microcystines sont les toxines les plus fréquemment rencontrées lors des blooms de cyanobactéries (Carmichael, 1992 ; Sivonen & Jones, 1999 ; Neilan *et al.*, 2013). Les nodularines sont essentiellement produites dans les milieux salins (Gehring *et al.*, 2012) et les cylindrospermopsines se rencontrent surtout sous les latitudes tropicales même si elles sont de plus en plus signalées sous les latitudes tempérées. Les neurotoxines de type anatoxine qui étaient trouvées peu fréquemment sont désormais fréquemment observées, notamment dans les biofilms à

cyanobactéries du genre *Phormidium* qui se développent dans les rivières (Quiblier *et al.*, 2013).

o *microcystines : description et voies de biosynthèse*

Les microcystines sont des heptapeptides cycliques dont la structure chimique est très variable. Ces variations touchent principalement les acides aminés (AA) Leucine et Arginine en position 2 et 4 respectivement (Fig. 9) (Van Apeldoorn, 2007). Puddick *et al.* (2014) et Niedermeyer *et al.* (2015) ont rapporté qu'il existerait plus de 200 variantes des microcystines. Par ailleurs, la microcystine-LR est la variante la plus toxique, c'est la raison pour laquelle l'OMS a établi une valeur guide maximale de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de MC-LR dans l'eau potable (WHO, 2003).

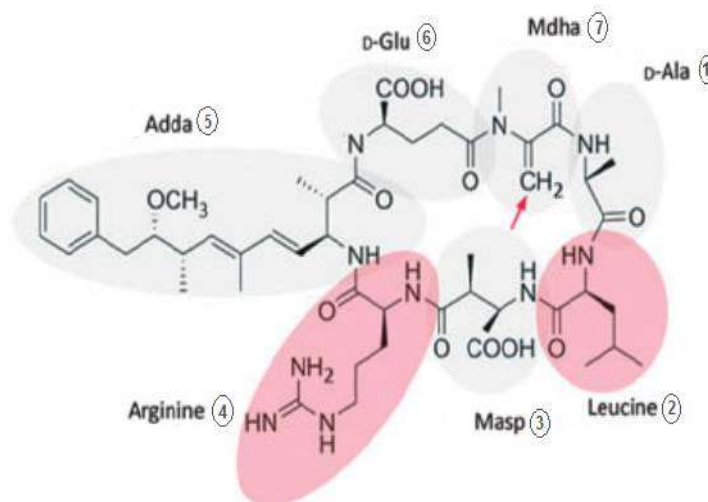


Figure 9. Structure chimique des microcystines.

Les résidus stables et variables sont indiqués par des ellipses grises et roses respectivement (modifié de Pereira *et al.*, 2013).

Les microcystines agissent comme des inhibiteurs spécifiques des protéines phosphatases 1 (PP1) et 2A (PP2a) (MacKintosh *et al.*, 1990). Ces molécules sont promotrices de tumeurs, des perturbateurs endocriniens et immunotoxiques avec des niveaux de toxicité variables (Messineo *et al.*, 2006).

La biosynthèse de ces métabolites secondaires se fait par voie non-ribosomale avec l'implication d'un complexe enzymatique multifonctionnel codés par le cluster de gènes *mcy* constitué de gènes qui codent pour des peptides synthétases non ribosomales (NRPS), des peptides polyketide synthases (PKS) et des enzymes de finalisation des queues peptidiques (Tillett *et al.*, 2000). Des différences du nombre et de l'ordre des gènes *mcy* ont été rapportées d'une cyanobactérie à l'autre (Fig. 10). Par ailleurs, dans les milieux naturels les blooms liés aux cyanobactéries hépatotoxiques (e.g. *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix*) comprennent un mélange de cellules toxiques possédant les gènes pour la synthèse des microcystines et de cellules non toxiques ne les possédant

pas ou possédant un cluster de gènes incomplet ou inactivé (Rantala, 2007 ; Ostermaier et al., 2012).

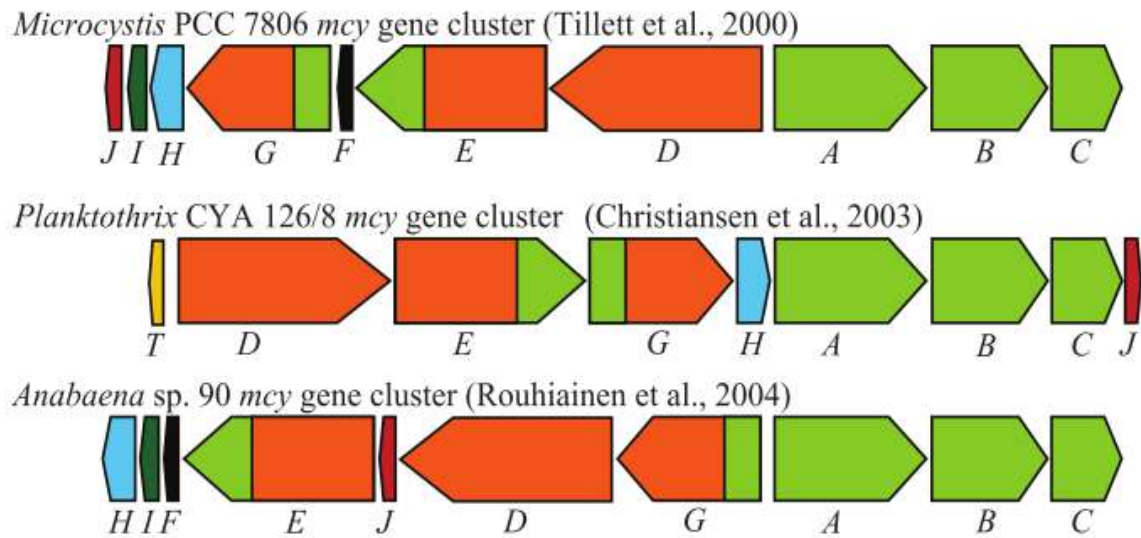


Figure 10. Représentation schématique du cluster de genes *mcy* des genres *Microcystis*, *Planktothrix* et *Anabaena*. Les NRPS, PKS et les gènes impliqués dans la synthèse des enzymes de finalisation des queues peptidiques sont indiqués en vert clair, orange et autres couleurs respectivement

1.3. Interaction des cyanobactéries et des bactéries

1.3.1. Le microhabitat phytoplanctonique

Les bactéries et les espèces phytoplanctoniques sont numériquement les microorganismes les plus abondants dans les écosystèmes lacustres et marins, leur métabolisme contrôle largement les flux énergétiques et les nutriments dans la zone pélagique (Cole, 1982). Des études ont montré que 1 à 20% du total du carbone photo-assimilé provient des produits extracellulaires des populations de phytoplancton. De plus, Buchan *et al.* (2014) ont rapporté que la moitié du carbone fixé par les organismes autotrophes en milieux marins rentre directement dans le processus bactérien (Fig. 11). Bell & Mitchell (1972) ont même démontré l'existence d'une zone,

allant de la cellule à une distance indéfinie autour de ces espèces phytoplanctoniques, dans laquelle la croissance bactérienne est directement influencée. Cette zone a été dénommée « phycosphère » par analogie à la « rhizosphère¹ » (Cole, 1982). Depuis, les études se sont intéressées à la structure et la composition des communautés bactériennes mais aussi aux échanges de celles-ci avec les espèces phytoplanctoniques dans la phycosphere (Paerl, 1977 ; Fallon & Brock, 1979 ; Paerl, 1996 ; Paerl & Pinckney, 1996 ; Fukami *et al.*, 1997 ; Buchan *et al.*, 2014 ; Arandia-Gorostidi *et al.*, 2016).

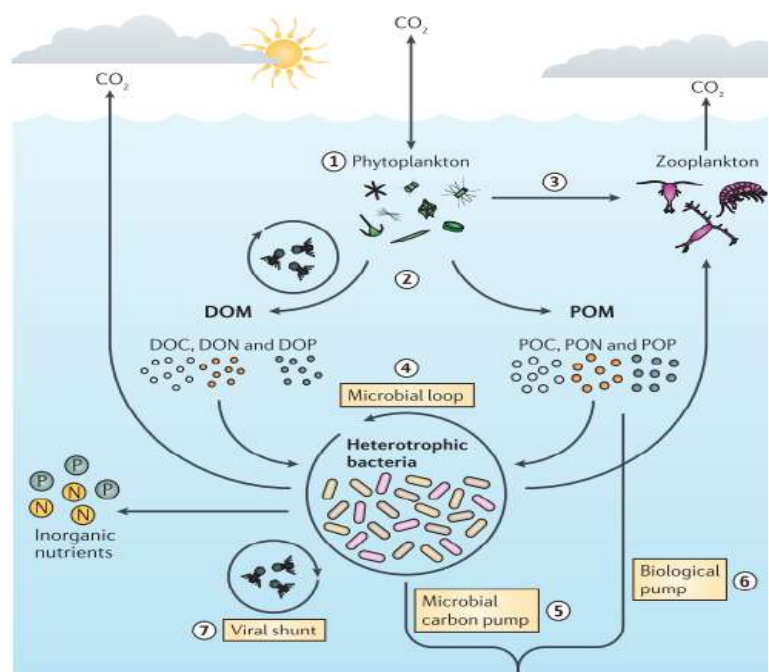


Figure 11. Transformation bactérienne de la matière organique dérivée du phytoplancton. Abréviations. DOM: Matière organique dissoute. DOC : Carbone Organique Dissous. DON : azote Organique Dissous. DOP : Phosphore Organique Dissous. POM : Matière organique Particulaire. POC : Carbone Organique Particulaire. PON : azote Organique Particulaire. POP : Phosphore Organique Particulaire. (D'après Buchan *et al.*, 2014)

¹ La région entourant les racines des plantes dans laquelle se produisent des interactions entre les organismes photosynthétiques et les bactéries dans le milieu terrestre.

1.3.2. La phycosphere cyanobactérienne

Les communautés bactériennes attachées aux cyanobactéries dans les écosystèmes d'eau douce présentent des structures et compositions différentes des communautés bactériennes libres (Grossart & Simon, 2007). Worm & Sondergaard (1998) ont montré que le taux de croissance des bactéries attachées à *Microcystis* est plus important que celui des bactéries libres. De plus, la structure des bactéries attachées diffère d'une cyanobactérie à l'autre ; par exemple, Louati *et al.* (2015) ont comparé la phycosphere du genre *Anabaena* et celle du genre *Microcystis* et ont rapporté une dominance des Gammaproteobacteria et Alphaproteobacteria respectivement.

Il est intéressant à préciser que les interactions au sein de la phycosphere de cyanobactéries sont très spécifiques puisque les bactéries associées peuvent s'attacher aux colonies comme aux filaments et en l'occurrence peuvent avoir des hôtes morphologiquement et physiologiquement différents (e.g. hétérocytes, akinètes, mucilage). Ce genre d'associations spécifiques a été observé dans une étude impliquant *Pseudomonas aeruginosa* et une cyanobactérie du genre *Anabaena* où toutes les *P. aeruginosa* se trouvaient attacher préférentiellement aux hétérocytes (Fig. 12) (Paerl, 1977).

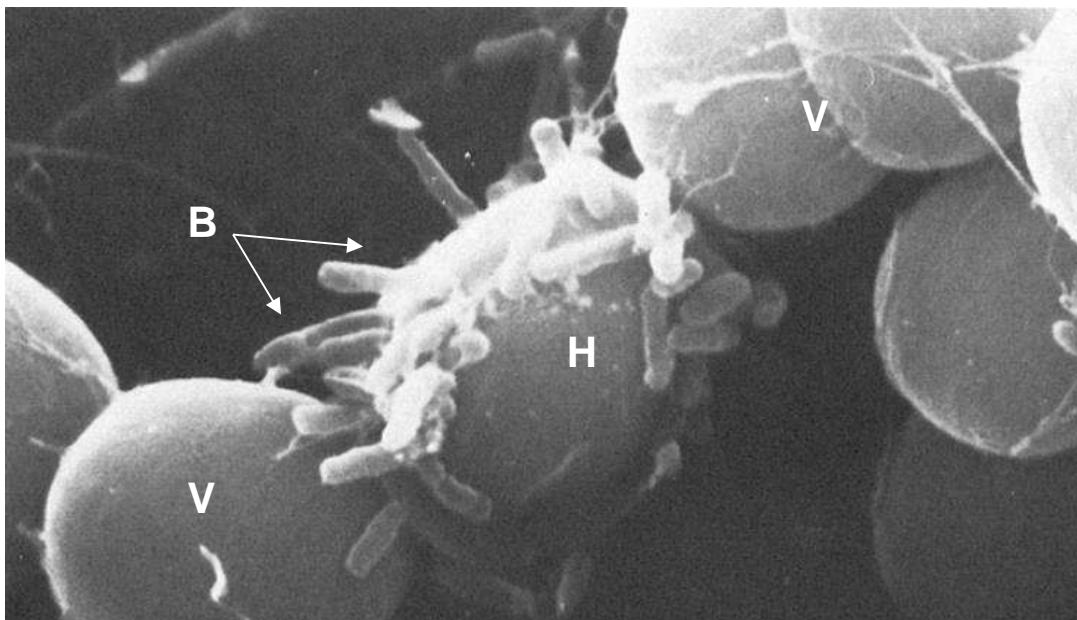


Figure 12. Micrographie MEB qui montre l'attachement spécifique des bactéries aux hétérocytes d'*Anabaena circinalis*. H : hétérocyte, V : cellule végétative, B : bactéries (d'après Paerl *et al.*, 1977).

Il est aussi connu que la quantité et la qualité de la matière organique produite par les cyanobactéries durant leur croissance dépend de plusieurs facteurs tels que les espèces et leurs état physiologique et des nutriments aussi (Leloup *et al.*, 2013) d'où la spécificité de la composition des bactéries associées aux cyanobactéries. Dans ce contexte, le genre *Microcystis* a été largement étudié notamment puisque ses proliférations ont été rapportées sous toutes les latitudes mais aussi puisque les bactéries attachées se trouvent en contact avec une source de la matière organique (i.e. le mucilage) (Worm & Sondergaard, 1998).

1.3.3. Différents types d'interactions entre les cyanobactéries et les communautés bactériennes

Les échanges dans le cadre de cette relation étroite (phycosphere) entre les bactéries attachées et les cyanobactéries constituent un avantage écologique via les interactions mutualistes (Fuks *et al.*, 2005 ; Rooney-Varga *et al.*, 2005 ; Grossart & Simon, 2007). Néanmoins, des relations d'antagonisme peuvent également être observées à travers l'inhibition de la croissance des uns ou des autres (Berg *et al.*, 2009; Fukami *et al.*, 1997; Lovejoy *et al.*, 1998). Ces interactions positives et négatives sont résumées ci-dessous.

1.3.3.1. Influences des bactéries sur la croissance des cyanobactéries

Les bactéries peuvent influencer de différentes manières la croissance des cyanobactéries via une éventuelle compétition (e.g. compétitions aux nutriments essentiels) (Buchan *et al.*, 2014) ou en detoxifiant les métaux extracellulaires des cyanobactéries ; de ce fait, une chélation du Fer peut le rendre autotoxique vis-à-vis de l'hôte (e.g Caldwell & Caldwell, 1978). Elles peuvent également être à l'origine du déclin de la biomasse des cyanobactéries dominantes dans les lacs via une lyse cellulaires (Brock & Fallon, 1979 ; Paerl, 1977 ; Xing *et al.*, 2011). Dans ce contexte, Erik *et al.* (1999) ont observé quelques temps après le début de la lyse des cyanobactéries, une augmentation des séquences de bactéries (non détectées au préalable sur les profils DGGE) dont la majorité correspondait aux bactéries capables de dégrader la matière organique (i.e. Cytophagales, Actynomycètes). D'autres bactéries impliquées dans la lyse des cyanobactéries ont été également rapportées dans la littérature (Wang & Chen, 2008) ; de même Xing *et al.* (2011) ont identifiés huit

nouveaux clusters ou sub-clusters dans l'arbre phylogénétique de *Clostridium* impliqués dans la décomposition (anaérobie) des blooms de *Microcystis*.

D'autre part, les bactéries au sein de la phycosphere cyanobactérienne peuvent avoir des effets positifs via la production des vitamines (Cole, 1982). Ces bactéries attachées ont été aussi impliquées dans l'approvisionnement des cyanobactéries en nutriments (Cai *et al.*, 2013) ; il a été observé que la re-inoculation d'une culture axénique de *Anabaena* avec *P. aeruginosa* stimulait la croissance de la cyanobactérie et la fixation d'azote via une augmentation de l'activité de la nitrogénase. De même, il a été démontré que la colonisation bactérienne des hétérocytes stimulait la consommation d'oxygène par les cyanobactéries puisque la fixation de l'azote par les cyanobactéries des genres *Anabaena*, *Aphanizomenon* est régulée par la tension ambiante en O_2 (malgré la présence des hétérocytes). A ceci s'ajoute, la mobilisation du CO_2 et PO_4 par les bactéries attachées durant les épisodes de prolifération des cyanobactéries qui constitue un des avantages des cyanobactéries (voir 1.2.3) comparées au phytoplancton eucaryote (Paerl, 1996).

1.3.3.2. Influence des cyanobactéries sur les bactéries

Les différentes populations des bactéries hétérotrophes sont largement impactées par les nutriments et métabolites (e.g. alcaloïdes, carbohydrates, acides aminés, peptides) excrétés par les cyanobactéries lors des blooms (Paerl, 1996 ; Edwards & Lawton, 2009; Mou *et al.*, 2013). Ainsi, les toxines produites par les cyanobactéries peuvent jouer un rôle positif ou antagoniste pour les bactéries hétérotrophes associées (Fig. 13). Dans ce même contexte, Kirkwood *et al.* (2006) ont exploré le potentiel des exsudats de

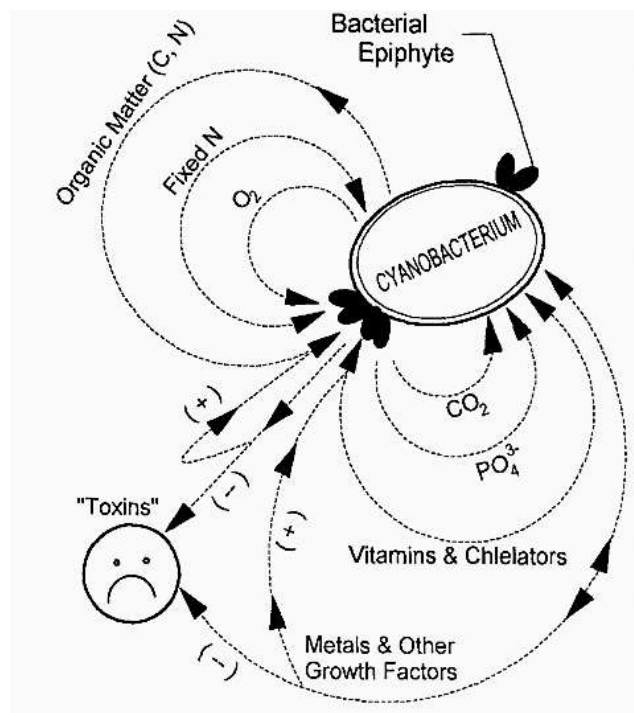


Figure 13. Interactions métaboliques potentiellement bénéfiques entre les cyanobactéries et les bactéries hétérotrophes associées (Paerl & Pinckney 1996).

cyanobactéries à affecter le métabolisme des bactéries hétérotrophes. Leurs résultats ont montré que les douze souches de cyanobactéries faisant l'objet de cette étude pouvaient fournir des substrats qui stimulent la croissance de trois bactéries hétérotrophiques à des degrés différents. Cependant, l'étude des effets de quatre de ses souches de cyanobactéries sur le potentiel de biodégradation du phénol et le dichloroacetate (DCA) par les souches de *Pseudomonas* et *Ancylobacter* a montré que les exsudats de trois quart des souches de cyanobactéries inhibaient la biodégradation du phénol mais stimulaient la biodégradation du DCA témoignant de la spécificité des espèces et l'antagonisme des interactions. De plus, des effets controversés des cyanobactéries sur les bactéries dans la phycosphere peuvent être observés via la production de composés qui inhibent non seulement la biodégradation de certaines molécules mais inhibent aussi la croissance des bactéries (e.g. Cannell *et al.*, 1988).

***Chapitre II. Présentation des sites d'étude et les
stratégies d'échantillonnage***

2.1. Contexte

Les études faisant l'objet de cette thèse ont été réalisées dans la retenue du barrage Hammam Debagh et dans le lac Oubeira. Ces deux plans d'eau très différents sont d'une importance capitale d'un point de vue socio-économique, écologique et touristique. En effet, par sa capacité, le barrage Hammam Debagh est le second plus important réservoir artificiel de l'Est Algérien. Sa création (1987) s'inscrivait dans le cadre du plan gouvernemental d'augmentation des ressources en eau suite à l'augmentation des besoins accompagnant la croissance démographique qu'observe le pays. En ce qui concerne le lac Oubeira, qualifié comme Garàa¹ (Hilly, 1962) par la population autochtone de la région, il fait partie du troisième plus large complexe de zones humides de la méditerranée nommé le Parc National d'El-Kala (PNEK) (Samraoui & De Belair, 1998). Ce lac d'eau douce endoréique² a été désigné comme une zone humide naturelle en 1984 par la convention Ramsar (Site officiel : www.ramsar.org). Il a été également désigné par l'UNESCO comme un patrimoine naturel et culturel mondial et une réserve de la biosphère, en 1990. Le lac Oubeira, abrite une biodiversité très riche en espèces dont certaines sont rares (Quezel & Santas, 1963 ; De Belair, 1990 ; Benyacoub *et al.*, 1998 ; Miri, 1996 ; Chalabi *et al.*, 1985). La création du PNEK a été réalisée dans le but de préserver le patrimoine naturel de la région de toute intervention artificielle incompatible avec le milieu afin d'assurer la reproduction et le développement des espèces végétales et animales.

Les pressions locales liées principalement aux activités anthropiques ; mais également les pressions globales et notamment les changements climatiques sont des processus clés des changements ayant intervenu dans ces ressources en eau, notamment de la présence récurrente d'efflorescences de cyanobactéries dans le lac Oubeira et dans moindre degré, dans le barrage Hammam Debagh.

¹ Etendue d'eau libre

² Un lac dont les eaux ne se raccordent pas à la mer

2.2. Présentation des sites d'étude

2.2.1. Description de la retenue Hammam Debagh

La retenue Hammam Debagh est située dans le Nord-Est Algérien ($36^{\circ}28'17.6''$ N, $7^{\circ}12'51.2''$ E) au niveau de la commune Hammam Debagh (ex Hammam Meskhoutine), à 23 Km du chef-lieu de la Wilaya de Guelma (Fig. 1). Ce plan d'eau, implanté sur l'Oued Bouhamdane est localisé à une altitude de 800m et sa profondeur moyenne est de 32 m (min= 5 m, max= 60 m). Ce réservoir artificiel est étendue sur 6.5 km^2 et sa capacité est de 185 hm^3 (Agence Nationale des Barrage et des Transferts ; ANBT). Les usages de la retenue sont divers ; d'un côté elle alimente en eau potable environ 180.000 habitants de la wilaya de Guelma et d'un autre côté, elle est utilisée pour l'irrigation de la vallée Guelma-Boucheougouf qui s'étend sur une superficie d'environ 13.000 ha. A ces usages s'ajoutent, à un degré moindre, des activités de pêche et de loisirs.

En ce qui concerne la climatologie de la région d'étude, celle-ci est soumise au climat méditerranéen caractérisé par deux saisons distinctes, l'une pluvieuse humide avec des précipitations relativement élevées et des températures basses allant jusqu'à 3°C et moins, l'autre sèche moins pluvieuse avec des températures élevées allant jusqu'à 40°C et plus. La zone d'étude est caractérisée par des précipitations annuelles oscillant entre 528 – 611 mm (Khanchoul *et al.*, 2010).

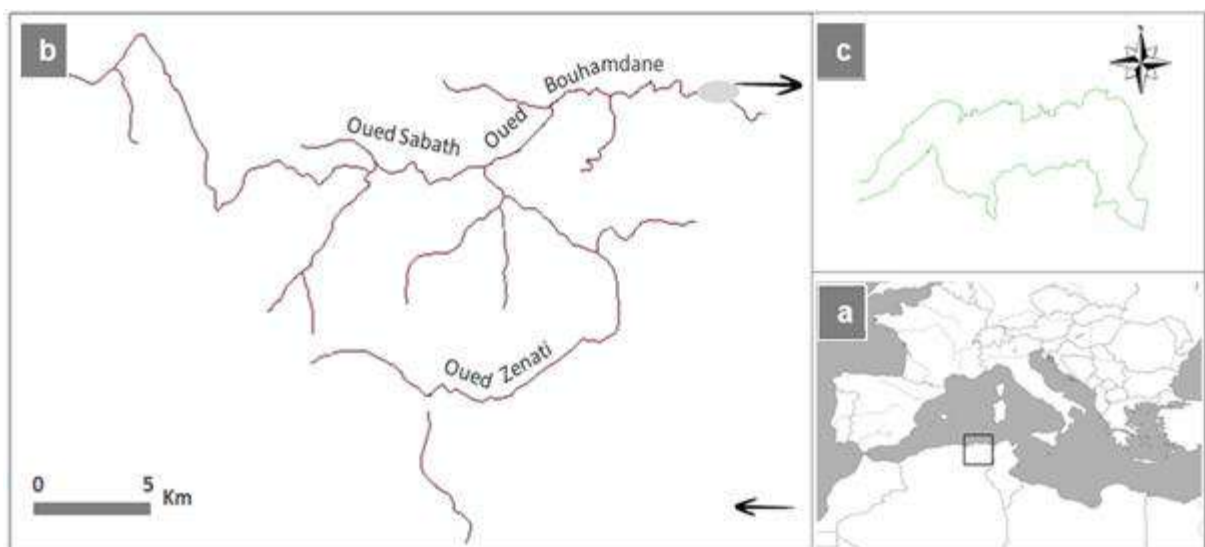


Figure 1. Localisation géographique de la retenue Hammam Debagh. a) Bassin versant de l'Oued Bouhamdane ; b) vue globale de la retenue Hammam Debagh ; c) Bassin méditerranéen ouest

2.2.2. Description du lac Oubeira

Le lac Oubeira (36°51' N, 08°23' E) situé à 5km de la ville d'El-Kala (Wilaya d'El-Tarf) s'étend sur une superficie de 23 km² (Fig. 2). Ce lac d'origine naturelle situé à une altitude de 25 m est caractérisé par sa faible profondeur et par un important envasement réduisant la profondeur du lac à environ 1,5 m (Alayat. *et al.*, 2013). Le lac Oubeira est alimenté par plusieurs Oueds et de petits affluents des collines avoisinantes : Oued Demnet Erihane au Nord, l'Oued Bou-Merchen au Nord-Est, Oued Day L'Graa a l'Est ainsi que l'Oued Messida au Sud-Est (MPRH, 2004). Compte tenu de son niveau trophique, l'alimentation en eau potable par ce lac hypereutrophe a été arrêtée. Cependant, des activités d'aquaculture, de pêche et d'irrigation des terres agricoles (en saison sèche) sont encore pratiquées.

En raison de sa situation à l'extrême Nord-Est Algérien, la région d'El-Kala est soumise au climat méditerranéen chaud caractérisé par un hiver doux et humide et un été chaud et sec. La région est marquée par de fortes pertes par évaporation (Alayat *et al.*, 2013 ; seltzer, 1946). Les mois les plus froids sont Janvier et Février (13 °C en moyenne), alors que Juillet et Août sont les plus chauds (26 °C en moyenne). Ces températures très élevées sont généralement liées au vent saharien (i.e. sirocco) (De Belair, 1990) qui souffle sur la région du nord d'Afrique et en sud de la mer méditerranéenne. Les températures les plus douces sont observées en Octobre, Novembre, Avril et Mai. La région d'El-Kala compte parmi les zones les plus arrosées d'Afrique du Nord (1300 mm/an) (Brahmia, 2016).

2.3. Description des bassins versants des sites d'études

2.3.1. Bassin versant de l'Oued Bouhamdane

Le bassin versant de l'Oued Bouhamdane situé dans la partie Ouest de la wilaya de Guelma fait partie du grand bassin versant de la Seybouse dont l'étendu est estimé à 6475 km². Il est drainé par l'Oued Bouhamdane qui résulte de la confluence de deux principaux cours d'eau : l'Oued Sabath et Oued Zenati. L'étendu du bassin versant de l'Oued Bouhamdane est estimé à 1070 km² (ANBT; www.anbt.dz). En effet, il englobe onze communes appartenant à trois wilayas dont Guelma (Oued Zenati, Bourdj

Sabath, Ain Ragada, Ain Hassainia, Medjez Ammar, Ras el Agba, Hammam Debagh, Bouhamdane), Constantine (Ain Abid et Ben Badis) et Skikda (Oulade Hababa), le site du barrage étant implanté à 3 Km de la commune de Hammam Debagh. Le bassin versant de l'Oued Bouhamdane abrite 134.314 habitants (selon le recensement de 2008) dont 66,37% sont concentrés au niveau des communes de la Wilaya de Guelma (Mansouri, 2009).



Figure 2. Localisation géographique du lac Oubeira. a) Parc National d'El-Kala ; b) Carte du bassin méditerranéen

Le bassin versant présente un relief de moyennes montagnes, les zones du sous bassin versant présentent un couvert végétal naturel (chêne liège, maquis, reboisement) couvrant 31,7% de la surface de celui-ci dont 19,5% sont exploités comme terrains de parcours. La région connaît une forte activité agricole, essentiellement la céréaliculture qui occupe 58,1% de la surface du bassin et l'olivier autour de 1% (Louamri *et al.*, 2013). On distingue deux zones climatiques dans le bassin versant de l'Oued Bouhamdane dont l'une subhumide située au Nord sous

l'influence du climat méditerranéen et une autre au Sud de type semi-aride (Mansouri, 2009 ; Khanchoul *et al.*, 2010).

Les activités industrielles dans le bassin versant de l'Oued Bouhamdane sont presque insignifiantes, elles sont représentées par la menuiserie, et par des unités de petites industries spécialisées dans l'agro-alimentaire notamment les huileries et limonaderies (Mansouri, 2009).

2.3.2. Bassin versant du Lac Oubeira

Le bassin versant du lac Oubeira s'étend sur une superficie de 9730 ha. Le plan d'eau représente environ 22% de la superficie totale du bassin versant. Le bassin versant du lac Oubeira est chevauchant sur deux communes, El-Kala et Ain El-Assel, qui abritent environ 40 000 habitants en 2003. Ainsi, les mechtas¹ qui font partie du bassin versant sont : Meridima, Demt Rihâna, Gantra El Hamra, Gelas Sud pour la commune d'El-Kala et Frin, M'guessira, Dey Graa pour la commune de Ain El-Assel.

Le domaine agricole est constitué par les parcelles de terres travaillées par les riverains, mais également par les jachères. Il s'étend sur une superficie de 1541 ha, soit 16 % de la surface totale du bassin versant. Les cultures pratiquées sont le maraîchage, l'arboriculture, mais surtout les arachides notamment dans la plaine d'El Frin. Le domaine forestier, quant à lui, il s'étend sur une superficie globale de 7 123 ha qui correspond à un taux de boisement de 73%. Les principales essences forestières étant le chêne liège, chêne zène et le pin d'Alep. Les maquis denses et clairs couvrent respectivement une aire de 1507 ha et 737 ha. Ils sont situés au nord et au sud du bassin versant (MPRH, 2004).

¹ Au Maghreb (Nord-Afrique), un groupe de maisons éloignées de la ville

2.4. Stratégies et méthodes de prélèvements

2.4.1. Stratégies et méthodes employées dans la retenue Hammam Debagh

Les prélèvements d'eaux brutes réalisées dans le cadre de cette thèse ont été effectués de Février 2013 à Juin 2015 à raison d'un prélèvement mensuel. Deux principaux types de prélèvements ont été réalisés : Le premier consiste en un échantillonnage en sub-surface dans quatre stations d'échantillonnage (St1, St2, St3 et St4) situées le long d'un transect Ouest-Est allant de l'Oued Bouhamdane au barrage (Fig. 3). Le second consiste en un échantillonnage dans les différentes couches limniques de la colonne d'eau. Ces prélèvements ont été réalisés au niveau de la station située au centre de la retenue (St3) aux profondeurs suivantes : 2 m, 5 m, 10 m, 20 m 30 m et 40 m.

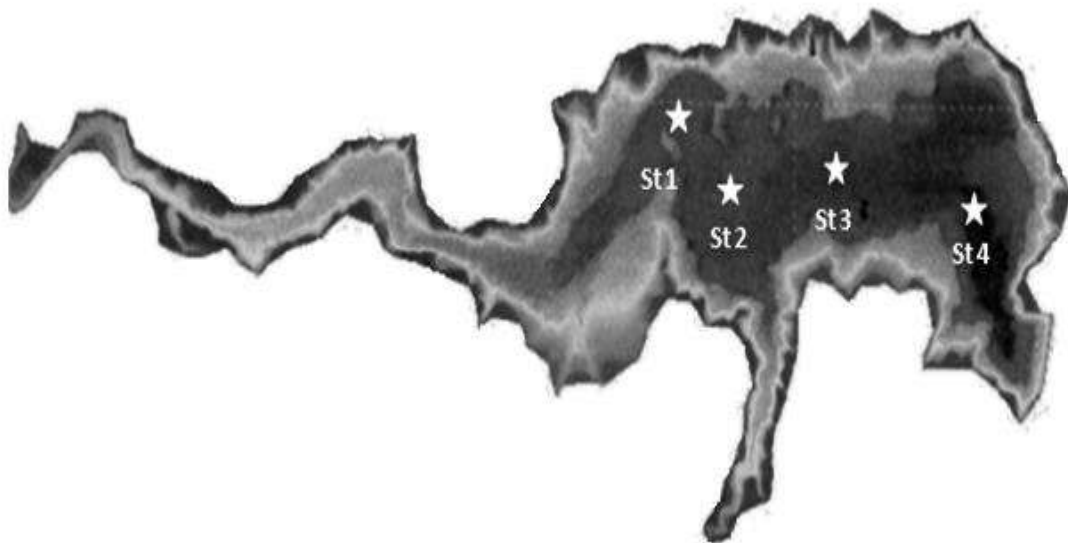


Figure 3. Localisation des différentes stations de prélèvements dans la retenue Hammam Debagh. Carte du levier bathymétrique réalisé en 2004 (ANBT, Guelma) : la partie la plus foncé (St4) indique la partie la plus profonde de la retenue.

Compte tenu du type de prélèvement, des finalités différentes de ces prélèvements et des contraintes liées à l'échantillonnage notamment le volume des échantillons, plusieurs méthodes de prélèvements ont été employées

Méthodes d'échantillonnage en surface

Dans un premier temps, nous avons procédé à un prélèvement d'eau brute pour l'identification microscopique et le comptage des cyanobactéries dominantes. Pour cela, un prélèvement intégré de 1 L d'eau brute à l'aide d'un tube échantillonneur de 1 m de long a été effectué dans chacune des quatre stations de prélèvement. Ce volume a été concentré par la suite à travers un filet à plancton de 20 µm de vide de maille, pour obtenir au final un volume d'environ 100 mL. Ensuite, un second prélèvement à la bouteille (1,5 L) destiné aux mesures de la turbidité et aux dosages de la chlorophylle-a, des nutriments et du fer ont été réalisés en sub-surface. De plus, des mesures des paramètres physico-chimiques à savoir : Température, pH, conductivité et O₂ dissous ont été réalisées à l'aide des sondes multiparamétriques (3420 IDS multi-paramètre WTW, Germany) dans chacune des quatre stations de prélèvement. Le pourcentage de saturation en O₂ dissous a été calculé en utilisant les équations (1) et (2) :

$$\%S = 100 \times C / C_s \quad (1)$$

$$\text{Sachant que : } C_s = 468,41 / (31,64 + T) \quad (2)$$

%S = Pourcentage de saturation en O₂ dissous

C = Concentration en O₂ dissous (mg L⁻¹)

C_s = Concentration standard

T = Température (°C)

Pour finir, une estimation de la transparence de l'eau a été réalisée en immergeant un disque de Secchi suivie d'une mesure de la profondeur à laquelle il disparaît (SD). Cette mesure a été utilisée pour définir la zone euphotique¹ (Z_{eu}), celle-ci est calculée selon l'équation suivante (Mariani *et al.*, 2015) :

$$Z_{eu} = 2.5 \times SD \quad (3)$$

¹ La profondeur à laquelle pénètre 1% de la lumière.

Méthodes d'échantillonnage et mesures dans la colonne d'eau

Un prélèvement vertical de 1 L d'eau brute dans chacune des profondeurs définies, a été effectué à l'aide d'une bouteille d'échantillonnage de type Ruttner (Hydro-Bios®, Germany) équipé d'un thermomètre, ce qui nous a permis d'établir un profil vertical de la température et ainsi définir les différentes couches limnique et la profondeur de la zone de mélange¹ (Z_m) (Lawrence *et al.*, 2000). Ces prélèvements ont été destinés aux identifications et comptages des cyanobactéries dominantes mais aussi aux dosages de la chlorophylle-a, des nutriments et du fer. Ainsi, tous les échantillons ont été conservés au froid et à l'ombre avant d'être traités en partie le jour même et le lendemain. Pour finir, des profils verticaux de pH, O₂ dissous, conductivité ont été établis à l'aide des sondes multiparamétriques (3420 IDS, WTW, Germany) tandis que le profil vertical de la turbidité a été établi par des mesures au laboratoire (2100N, HACH, USA). Ces prélèvements et mesures ont été effectués au niveau de la station du centre uniquement (St3).

2.4.2. Stratégies et méthodes employées dans le lac Oubeira

Un échantillonnage mensuel a été effectué du mois d'Avril 2014 au mois de Février 2015 au niveau de cinq stations de prélèvements. Nous nous sommes basés sur les apports des Oueds qui alimentent le lac Oubeira pour définir les stations de prélèvements (Fig. 4) dont quatre se trouvent à l'embouchure des Oueds (St1 : Bou-Merchen, St2 : Day L'Graa, St3 : Messida, St5 : Demnet Erihane) et une station au centre du lac (St4).

Des prélèvements d'eau brute ont été réalisés au niveau du lac Oubeira afin d'étudier la structure et la composition des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries. Pour cela, dans chacune des stations de prélèvements, nous avons procédé à la filtration d'un volume de 100 L à travers un filet à plancton de 20 µm de vide de maille. Ainsi, le filtrat (environ 100 mL) a été conservé à l'abri de la lumière dans une glacière afin d'être filtré une seconde fois au laboratoire sur des membranes en polycarbonate d'une porosité nominale de 5 µm et lyophilisé pour être conservé au

¹ La profondeur allant de la surface jusqu'à la profondeur de la colonne d'eau où la variation de la température de l'eau est supérieure de 0.2 °C/m.

congélateur à -20 °C. Parallèlement des prélèvements d'eau brute ont été réalisés à quelques centimètres de la surface afin d'étudier les variations des concentrations en chlorophylle-a et des sources d'azote et de phosphore disponibles. Pour cela un volume de 1 L a été prélevé à la bouteille et conservé à l'abri de la lumière. Nous avons effectué des mesures « *in situ* » des paramètres physico-chimiques (Température, pH, conductivité et O₂ dissous, SD).

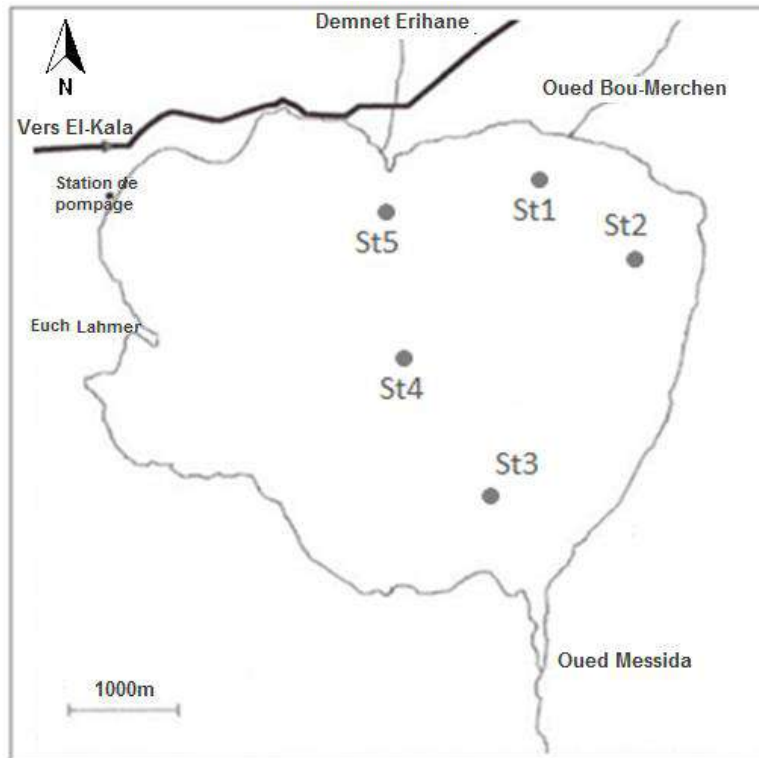


Figure 4. Localisation des différentes stations de prélèvements dans le lac Oubeira

Chapitre III. *Diversité génétique des cyanobactéries et la compétition/cohabitation de *Planktothrix rubescens* et *Microcystis* sp. : dynamique spatio-temporelle*

3.1. Introduction

Les proliférations de cyanobactéries potentiellement toxiques sont en augmentation dans les écosystèmes d'eau douce partout dans le monde. Ces proliférations sont liées principalement à l'eutrophisation et à un moindre degré au réchauffement climatique (El-Shehawey *et al.*, 2012; Paerl *et al.*, 2009 et 2011). Alors que les contraintes climatiques agissant sur les écosystèmes d'eau douce des milieux tempérés, subtropicaux et tropicaux sont très différentes, en termes de température et d'intensité lumineuse par exemple, la plupart des cyanobactéries trouvées dans tous ces écosystèmes sont pourtant les mêmes. La comparaison de l'écologie de ces espèces qui vivent dans ces conditions environnementales très différentes est très prometteuse, par exemple, dans l'objectif d'anticiper l'impact des changements climatiques sur les écosystèmes d'eau douce dans les pays du Nord.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons dans un premier temps à décrire la dynamique et la composition des communautés de cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh par une approche moléculaire, et nous étudierons par la suite, la dynamique de la cohabitation et les proliférations successives ou concomitantes de *Planktothrix rubescens* et *Microcystis* sp. qui sont dominantes dans ce plan d'eau (région subtropicale). Dans ce contexte, il est intéressant de noter que l'association, au sein d'un même écosystème d'eau douce, de ces deux cyanobactéries non-fixatrices d'azote atmosphérique et appartenant à des groupes fonctionnels éloignés (Reynolds *et al.*, 2002) reste un phénomène non décrit à nos jours. Par ailleurs, *P. rubescens* est principalement distribuée dans les zones tempérées et froides et elle n'avait pas encore été signalée en Afrique. Les efflorescences liées à cette espèce ont en effet été principalement signalées dans les lacs préalpins d'Europe occidentale et centrale qui sont mésotrophes, profonds et thermiquement stratifiés (Jacquet *et al.*, 2005 ; Ernst *et al.*, 2009 ; Messineo *et al.*, 2006 ; Micheletti *et al.*, 1998). Elle a également été signalée dans les lacs peu profonds en Scandinavie (Halstvedt *et al.*, 2007) ou au Canada (Nürnberg *et al.*, 2003). Kurmayer *et al.* (2016) ont rapporté la distribution géographique du genre *Planktothrix* et ont montré que *Planktothrix rubescens* n'a jamais été signalée dans la région subtropicale. Parallèlement, *Microcystis* sp. est connue pour avoir une distribution

mondiale (Harke *et al.*, 2016), ses proliférations ont été rapportées principalement dans les écosystèmes eutrophes et hyper-eutrophes pendant la saison estivale (Mariani *et al.*, 2015 ; Van Wichelen *et al.*, 2016). En outre, les proliférations de *Microcystis* sont fréquemment associées, dans un même écosystème, avec des cyanobactéries des genres *Aphanizomenon* et *Dolichospermum* qui sont fixatrices d'azote (Recknagel *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2010).

Des associations/compétitions de *Microcystis* avec *Planktothrix agardhii* ont également été décrites dans la littérature et elles dépendraient notamment des variations de la disponibilité de la lumière dans la colonne d'eau (Torres *et al.*, 2016). De même, Yamamoto *et al.*, (2009) ont rapporté des associations de *Microcystis* (principalement *M. aeruginosa*) avec *Planktothrix raciborskii* au Japon. Enfin *Planktothrix rubescens* est parfois observée en association avec des microalgues (e.g. Chrysophytes, Cryptomonad) (Reynolds *et al.*, 2002).

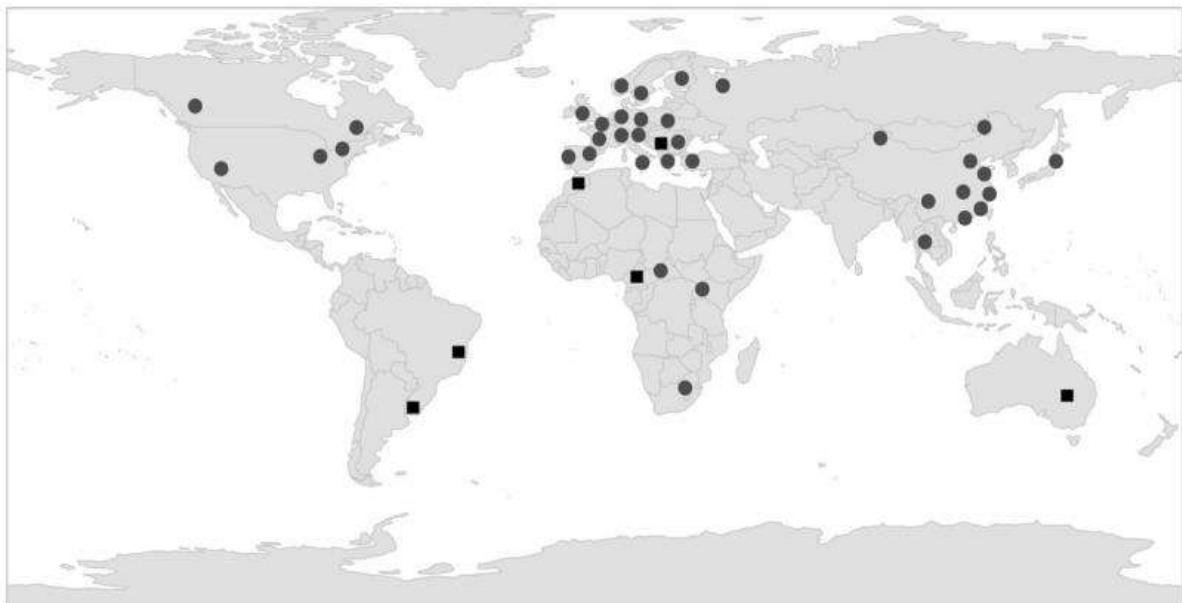


Figure 1. Distribution géographique de *Planktothrix* spp. étudiées soit par isolement (taxonomie polyphasique, cercles), soit par observations microscopiques (symboles carrés) (D'après Kurmayer *et al.*, 2016).

3.2. Méthodologie

3.2.1. Approche microscopique dans l'étude de *P. rubescens* et de *Microcystis* sp.

Les filtrats (100 mL environ) obtenus après filtration du volume échantillonné à travers le filet à plancton (20 µm de vide de maille) ont été filtrés au laboratoire à travers une membrane en polycarbonate de 5,0 µm de porosité nominale (47 mm, Whatman®, Germany). Les membranes sont ensuite rincées avec 1mL du filtrat de l'échantillon même. L'identification des cyanobactéries dominantes a été effectuée à l'aide d'observations microscopiques (Axiostar Plus, Carl Zeiss, Germany) des caractéristiques morphologiques de celles-ci sur la base des critères proposés par Komárek & Anagnostidis, (1999, 2005). Les mesures ont été réalisées à l'aide d'une caméra UI-1240SE (IDS, Germany) intégrée au microscope.

Le comptage des cellules a été réalisé dans une cellule de comptage de type « Nageotte » selon la méthode proposé par Brient *et al.* (2008). Brièvement, le dénombrement a été effectué dans 50µL de l'échantillon concentré au préalable. Les abondances cellulaires dans les formes filamenteuses ont été estimées en divisant la longueur du filament de *P. rubescens* par la moyenne de la longueur des cellules. Quant aux abondances de *Microcystis*, les abondances cellulaires dans une colonie ont été estimées en se basant sur la surface d'une colonie et sur la surface moyenne des cellules. Le nombre de cellules est ensuite estimé en utilisant les équations (4) et (5):

$$N_{cell} = (S1/S2) - A \quad (4)$$

S1 : Surface colonial

S2 : Surface cellulaire

A : estimation visuelle de la proportion (x/100) du vide dans la colonie,

$$A = (S1/S2) * (x/100) \quad (5)$$

Le nombre total de cellules de *Microcystis* sp. ou *P. rubescens* obtenu est ensuite introduit dans la formule suivante afin la concentration cellulaire par litre d'eau brute :

$$\text{Nombre de cellules}/50\mu\text{L} = (\sum N_{cell}/b) \times 40 / 50 \quad (6)$$

$$\text{Nombre de cellules}/\text{mL} = \frac{\text{Nombre de cellules}/50\mu\text{L}}{V} \quad (7)$$

ΣN_{cell} : la somme des cellules dénombrées des différentes colonies ou filaments.

b : le nombre de bande sur lequel nous avons compté 30 individus.

V : volume de l'échantillon filtré en millilitres

40 : Nombre total de bandes de la Nageotte

50 : volume de la cellule de Nageotte (μL).

3.2.2. Etude de la diversité génétique des cyanobactéries

3.2.2.1. Préparation des échantillons

Les filtrats d'eau brute (100 μL) destinés à l'analyse de la diversité génétique des cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh ont été filtrés une seconde fois au laboratoire à travers une membrane en polycarbonate d'une porosité nominale de 5,0 μm (47mm, Whatman®, Germany). Ensuite, nous avons procédé à une lyophilisation des membranes contenant la biomasse (Alpha 1-2 LD+, Christ®, Germany) avant de les conserver au congélateur à -20 °C.

3.2.2.2. Extraction et purification de l'ADN

L'extraction de l'ADN environnemental a été réalisée selon la procédure décrite par Massana *et al.*, 1997. Ainsi, les lyophilisats ont été transférés dans des tubes dit « Lysing Matrix E » (MP Biomedicals, Illkirch, France) avant de subir une congélation instantanée dans de l'azote liquide. Ensuite, nous avons rajouté le tampon de lyse (40 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl, 0,75 M sucrose) avant de casser les cellules dans une « Fast Prep » avec une double agitation pendant 30 sc à une vitesse de 6,5 m s^{-1} (MP Biomedical, Fast Prep Instrument®-24). Une lyse enzymatique a été effectuée par la suite, par ajout de lysozyme suivi par une agitation à faible vitesse pendant 45 mn à 55 °C. Cette étape est suivie par une incubation du mélange dans du SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) à 20% et la protéinase K (0,2 mg mL^{-1}) à 55 °C pendant 90mn.

La purification de l'ADN des protéines et des lipides cellulaires a été ensuite réalisée par centrifugation du mélange (14000 rpm/ 5 mn) puis, après avoir récupéré le surnageant, par l'action du phénol chloroforme isoamyl alcool (V : V) et du chloroforme (V : V) afin d'éliminer le phénol résiduel qui peut agir comme inhibiteur lors de l'amplification de l'ADN. Une étape suivante de précipitation de l'ADN a été

effectuée ; pour cela, nous avons utilisé l'acétate de sodium à raison de 0,1 du volume récupéré (V). En effet, ce dernier est un co-précipitant de l'ADN avec l'isopropanol que nous avons rajouté (0,6 V). Nous avons ensuite stocké les échantillons à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant la nuit. L'ADN environnemental est sédimenté le lendemain par une centrifugation (13000 rpm/30 mn à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$), le culot est lavé avec 300 μL d'éthanol à 80% afin d'éliminer les sels d'acétate de sodium qui pourraient inhiber l'amplification de l'ADN. Après évaporation de l'alcool, l'ADN environnemental est finalement dilué dans 100 μL d'eau ultra pure et quantifié dans chacun des extraits à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop® ND-1000 (Plateforme protéomique, IBENS, Paris) avant de le conserver à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'aux analyses ultérieures.

3.2.2.3. Amplification de l'ADN par PCR

L'ADNr 16S est une région de l'opéron ribosomique constituée de neuf régions variables (1500 nt), flanquée par des régions conservées. Ces régions sont utilisées pour évaluer la distance phylogénétique entre les espèces de bactéries et/ou d'archées. Parmi ces régions, notre choix s'est orienté vers la région V3-V4 qui forme d'un fragment de 344 pb.

Ainsi, avant de procéder à l'amplification de la région choisie, nous avons réajusté la

concentration d'ADN environnementale dans chaque extrait à environ 20 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$. Ensuite, nous avons constitué un pool à concentration égale à partir des quatre extraits obtenus à chaque date de prélèvement (Tableau 1).

L'ADN est mis en présence des amorces 563F et 907rM (Tableau 2) (Schauer *et al.*, 2003; Claesson *et al.*, 2010) spécifiques de la région à amplifier dans un cocktail de PCR constitué de l'ADN polymérase (Phire Hot Start II, Fisher, France), tampon de PCR, MgCl_2 (50 mM), BSA (2 mg mL^{-1}), mélange des dNTP (10 mM) et de l'eau ultra pure (pour biologie moléculaire).

Tableau 1. Quantification des extraits d'ADN

Date de prélèvement	Concentration d'ADN ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$)	Ratio 260/280
28.10.2013	18.91	1.85
16.12.2013	16.62	1.61
21.01.2014	18.04	1.75
20.02.2014	16.28	2.37
19.03.2014	17.18	1.71
14.04.2014	17.36	2.2
05.05.2014	18.31	1.72
02.07.2014	17.72	1.69
06.08.2014	17.84	2.09
22.09.2014	19.24	1.55
27.10.2014	21.55	1.69
16.11.2014	18.8	1.58

Tableau 2. Amorces choisies pour l'amplification des régions V3-V4 de l'ADNr 16S

Gène	Noms des amorces	Séquences
<i>ADNr 16S (V3-V4)</i>	563F	5'-AYT-GGG-YDT-AAA-GNG-3'
	907rM	5'-CCGTCAATTCMTTGGAGTTT-3'

Les réactions de PCR ont été effectuées sur les extraits d'ADN environnemental ainsi que sur les témoins négatifs et positifs dans un thermocycleur (1000, laboratoires Bio Rad). Après 30 cycles de PCR (Tableau 3), l'échantillon d'ADN contient une concentration élevée de fragments d'ADN incluant les régions V3-V4, le reste de l'ADN n'est pas amplifié.

Tableau 3. Conditions de la PCR

Étape	Temps	Température	
<i>Dénaturation initiale</i>	2 mn	98°C	
<i>Dénaturation des brins</i>	10 sc	98°C	} 30 cycles
<i>Hybridation de la Taq</i>	30 sc	52°C	
<i>Elongation</i>	60 sc	72°C	
<i>Elongation finale</i>	10 mn	72°C	

Nous avons vérifié par électrophorèse sur gel d'agarose 1% (contenant du Bromure d'éthidium BET dans un tampon Tris Acetate EDTA (TAE 1X) que le fragment d'ADNr 16S ciblé a été amplifié. Pour cela, 10 µL de produit de PCR mélangés à 2 µL d'un colorant de charge, le bleu de bromophénol sont déposés dans le gel. La taille des produits d'amplification est vérifiée par comparaison à un standard de poids moléculaire (GeneRuler™ 1 kb Plus DNA Lader). Après migration pendant 25 mn à 75 volts, le gel est déposé sur un transilluminateur UV pour visualiser les produits d'amplification. La taille attendue est d'environ 300 pb.

3.2.2.4. Principe du séquençage Illumina MiSeq

La technique du séquençage Illumina développée par l'entreprise Solexa est basée sur la synthèse de l'ADN par une amplification en pont de ces fragments (Bentley *et al.*, 2008). Le système est muni de plaques de verres constituées de microsillons dans lesquels les fragments d'ADN simple brins viennent se fixer (Fig. 2B) grâce à des adaptateurs ajoutés lors de la préparation des échantillons (Fig. 2A). Ces brins d'ADN sont amplifiés directement sur ces plaques en verre où il en résulte des zones de forte densité d'ADN double brin. Une lecture laser permet alors de détecter simultanément toutes les positions incorporées (marquage différent de chacune des quatre bases azotées). Le clivage des fluorophores permet ensuite l'incorporation de la base suivante (Fig. 2C). La lecture est effectuée ainsi, cycle après cycle et le signal est enregistré par une caméra (Afssaps, 2011). Pour finir une dernière étape de traitement des données est effectuée incluant un alignement des séquences générées avec des séquences de références (www.illumina.com).

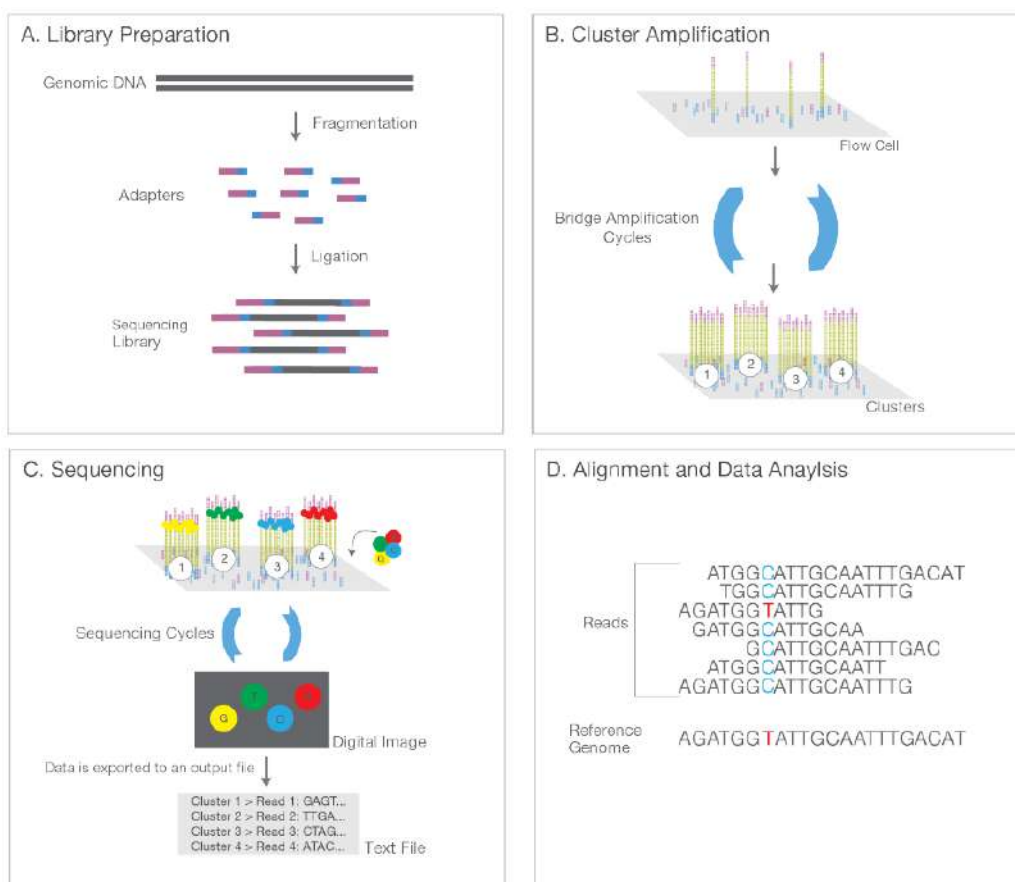


Figure 2. Les quatre principales étapes du séquençage Illumina

3.2.2.5. Traitement des données de séquençage

Le séquençage à haut débit Illumina MiSeq a été réalisé dans la plateforme MR-DNA (<http://www.mrdnalab.com/>, USA) sur l'ensemble des puits des extraits d'ADN environnemental. Le traitement des séquences brutes fournies, la définition des OTUs ainsi que l'assignation de ces OTUs par comparaison avec des bases de référence ont été réalisées par le pipeline de la plateforme MR-DNA. Ce pipeline procède par une approche classique qui consiste d'abord en un nettoyage des séquences par élimination i) des amorces et des barcodes, ii) des séquences de taille <150 pb, iii) des bases ambiguës et des homopolymères dépassant 6 pb. Ensuite les OTUs ont été générées et les séquences chimériques ont été éliminées. Ces OTUs ont été définies à un seuil de clusterisation de 97% ; l'identification taxonomie de chaque OTU a été ensuite déterminée par comparaison avec des séquences de référence dans les bases RDPII (<http://rdp.cme.msu.edu>) et NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov).

3.2.3. Paramètres de la structure et la composition des peuplements de cyanobactéries

3.2.3.1. Richesse spécifique

La richesse correspond au nombre total du nombre d'OTUs ou d'espèces présentes dans un écosystème étudié. Ce terme a été introduit en 1967 par McIntosh (McIntosh, 1967). Cette méthode ne considère pas l'abondance relative des différentes espèces et elle dépend beaucoup de l'effort de séquençage réalisé. Sa valeur écologique est donc limitée (Travers, 1964).

3.2.3.2. Estimateur de la richesse spécifique : indice Chao1

Les estimateurs non paramétriques cherchent à tirer le maximum d'information de la distribution des abondances pour estimer le nombre d'espèces non observées. L'indice Chao 1 (1994) estime le nombre d'espèces non observées à partir de celles observées 1 ou 2 fois. Il s'agit d'un estimateur minimum, valide à condition que les singletons et les doubletons représentent une part importante de l'information. Cet estimateur est calculé comme suit :

$$\hat{S}_{Chao1} = s_{\neq 0}^n + \frac{(n-1)(s_1^n)^2}{2ns_2^n} \quad (8)$$

$s_{\neq 0}^n$ est le nombre d'espèces différentes observé, s_v le nombre d'espèces observées v fois. L'échantillon est de n individus (Marcon, 2015).

3.2.3.3. Diversité spécifique : Indice Shannon-Weaver

La diversité α est la diversité locale, mesurée à l'intérieur d'un système donné. Plus précisément, il s'agit de la diversité dans un habitat uniforme de taille fixe (Marcon, 2015). Les indices de diversité permettent une expression qualitative plus ou moins pertinente de la structure de l'écosystème. Par ailleurs, la diversité d'un écosystème donné est fonction de la richesse spécifique d'un côté et de la distribution d'abondance des espèces de ce dernier. Parmi les indices de diversité, le Shannon-Weaver, H' (Shannon & Weaver, 1949) est souvent utilisé pour la caractérisation de la structure d'un peuplement. Il est calculé par la formule suivante :

$$H' = -\sum(p_i \log p_i) \quad (P_i = n_i / N) \quad (9)$$

S est la richesse, n_i est l'effectif de l'espèce i , N est l'effectif total du peuplement

3.2.4. Analyse des nutriments

Les concentrations des nutriments comprenant les sources d'azote (Nitrates, Nitrites et Ammonium), les sources de phosphore (exclusivement les orthophosphates) et les ions ferreux ont été mesurées par spectrophotométrie en utilisant les protocoles ISO décrits dans ISO Standards Compendium (1994). Pour cela, nous avons filtré 500mL d'eau brute à travers des filtres en microfibre de verre de porosité nominale de 0.45 μ m (47mm, GF/C, Whatman®). Ces analyses ont été effectuées dans le laboratoire de l'Algérienne des Eaux (ADE) de la commune Hammam Debagh (Guelma).

3.2.5. Biomasse phytoplanctonique globale

La biomasse phytoplanctonique globale a été estimée par un dosage de la chlorophylle- a par méthode spectrophotométrique. Après une filtration de 250 mL d'eau brute à travers des filtres en microfibre de verre, ces derniers ont été utilisés pour l'extraction des pigments dans 10mL d'acétone à 90% pendant 24 h. Par la suite, les solutions ont été centrifugées (9000 rpm pendant 10 mn) et les mesures spectrophotométriques (6705 UV-VIS, Jenway, Germany) ont été réalisées sur les

surnageant par la méthode trichromatique ; à des longueurs d'ondes de 663, 645, 630 et de 750 nm (correction liée à la turbidité de l'extrait acétonique) en appliquant la formule (10) (SCOR-UNESCO, 1966) :

$$\text{Chlorophylle-a } (\mu\text{g L}^{-1}) = \frac{[(11.64 \times A_{663}) - (2.16 \times A_{645}) - (0.1 \times A_{630}) \times v]}{VL} \quad (10)$$

où A est l'absorbance mesurée à une des trois longueurs d'onde, v est le volume de l'extrait cétonique (mL), V correspond au volume filtré (L) et L est le trajet optique (cm).

3.2.6. Evaluation du potentiel toxique des cyanobactéries

3.2.6.1. Principe du test d'inhibition de l'enzyme PP1a

Mackintosh *et al.* (1990) ont démontré que les microcystines inhibent les enzymes responsables de la déphosphorylation des phosphoprotéines intracellulaires, les protéines (sérine/thréonine) phosphatases, notamment PP1 et PP2A. Le degré d'inhibition des phosphoprotéines par les microcystines peut donc être utilisé comme mesure de la concentration de la toxine (heresztyn & Nicholson, 2001). Le principe de cette méthode biochimique repose ainsi sur une réaction colorimétrique entraînée par la transformation d'un substrat incolore, le para-nitrophényl phosphate, qui constitue la source de phosphore, en para-nitrophénol (Fig. 3) de couleur jaune (Sassolas *et al.*, 2011 ; Rapala *et al.*, 2002 ; Bouaicha *et al.*, 2001). Le test est réalisé dans des plaques multipuits (96 puits).

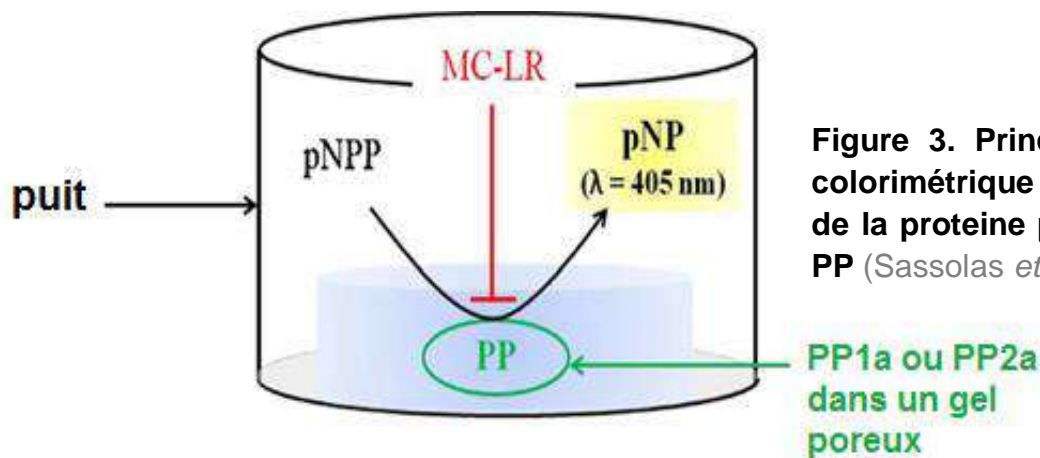


Figure 3. Principe du test colorimétrique d'inhibition de la protéine phosphatase PP (Sassolas *et al.*, 2011).

3.2.6.2. Extraction des microcystines

Nous avons filtré un volume d'eau brute (600-1000 mL) à travers un filtre en microfibre de verre (47 mm, GF/C, Whatman®) afin de retenir les toxines contenues dans les cellules cyanobactériennes. L'extraction des microcystines a été réalisée dans 10 mL d'une solution de méthanol : eau à 80% (V :V). La première étape consiste à libérer le contenu cellulaire par une sonification du mélange (3 cycles de 30 sc avec un intervalle de 5s entre les cycles). Le mélange est ensuite centrifugé à 4000 rpm pendant 10 mn, le culot pressé par une baguette en verre et le surnageant filtré à travers un filtre en microfibre de verre de type GF/C (25mm, Whatman®, Germany). Finalement, le filtrat est concentré par évaporation (Buchi®, Switzerland) et le résidu est repris dans 600 µL de la solution utilisée pour l'extraction avant de subir une seconde évaporation. Le résidu obtenu est conservé à -20 °C jusqu'à la réalisation du test.

3.2.6.3. Expérience multifactorielle

Ce test permet de définir la concentration optimale du couple enzyme/substrat utilisé dans le test d'inhibition de la protéine phosphatase. Il correspond en effet, à une dilution en cascade de l'enzyme PP1a allant de 1/50 à 1/1600 et une cascade de dilution du substrat pNPP allant de 10 à 120 mM (Fig. 4). Le volume réactionnel est de 200 µL (dans chaque puits de la plaque) comprenant 100µL du tampon Tris HCL supplémenté de BSA-DTT, 50 µL d'enzyme et 50 µL de substrat.

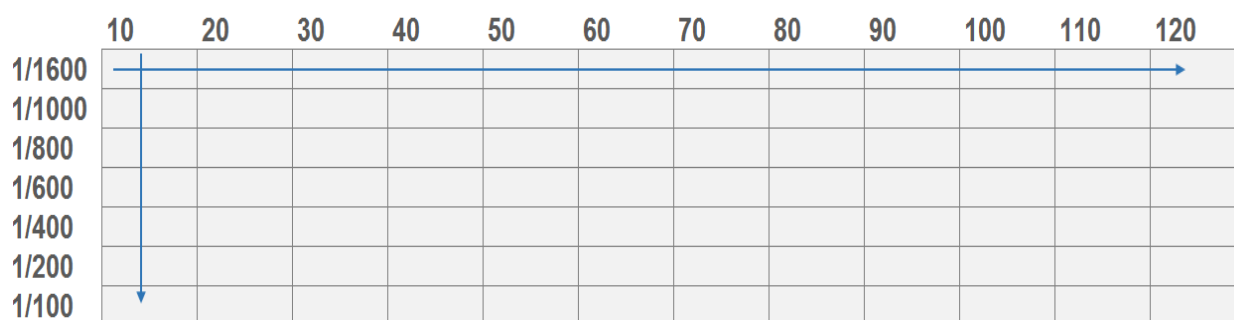


Figure. 4 Schéma de la microplaque (96 puits) utilisée pour le test multifactoriel

La lecture se fait à 405nm après incubation de la plaque à 37 °C pendant 5 mn sous agitation (Grant-Bio, PHMP-4, England) à 350rpm suivie de 55 mn sans agitation. La mesure des densités optiques est effectuée avec le lecteur de microplaque (Asys, UVM340, USA) avant analyses sous Excel afin de déterminer la concentration du couple enzyme/substrat correspondant à une DO comprise entre 0.6-0.8.

Tableau 4. Composition des solutions utilisées dans les différentes étapes du test d'inhibition de la protéine PP1a

Solution	Composition
<i>Tampon enzyme</i>	HEPES (0,05 mM), NaCl (0,2 mM) , MnCl ₂ 4H ₂ O (0,001 mM), DTT (0,0025 mM), EDTA 2Na ⁺ (0,0001 mM) , Glycerol (10%), Tween20 (0,25%)
<i>Tampon TRIS-HCl</i>	Tris HCl (0,03 M), EDTA-Na ⁺ (0,02 M), MgCl ₂ (0,02 M), KCl (0,1M)
<i>Tampon supplémenté BSA-DTT *</i>	Tampon TRIS-HCl (5 mL), BSA (1,5 mg), DTT (1,5 mg)
<i>Solution substrat *</i>	Tampon supplémenté BSA-DTT (1mL), pNPP (25,9 mg)
<i>Tampon supplémenté BSA-DTT **</i>	Tampon TRIS-HCl (35 mL)+ BSA (7 mg) + DTT (10,8 mg)
<i>Solution Substrat**</i>	Tampon supplémenté BSA-DTT (8 mL), pNPP (207,8 mg)
<i>Solution enzyme</i>	ex. 1/600: Tampon supplémenté BSA-DTT (5990 µL), enzyme (10 µL)

* Test d'activité catalytique PP1a

** Test d'inhibition PP1a

3.2.6.4. Mesure de l'activité catalytique de l'enzyme PP1a

Ces mesures permettent de voir la qualité de l'évolution de l'enzyme PP1a dans le temps et de distinguer la phase linéaire et la phase de saturation par une mesure cinétique et une mesure continue. L'enzyme PP1a est diluée dans une solution tampon (Tampon enzyme dans le Tableau 4) et les solutions nécessaires pour ces mesures sont disposées dans les colonnes 1-2-3 et les lignes A-B-C-D en quatre répliquas comme suit :

- Blanc 1 : 180 μL de Tampon Supplémenté BSA-DDT et 20 μL de pNPP
- Blanc 2 : 150 μL de Tampon Supplémenté BSA-DDT et 50 μL d'enzyme
- Mesure : 130 μL de Tampon Supplémenté BSA-DDT, 20 μL de pNPP et 50 μL d'enzyme

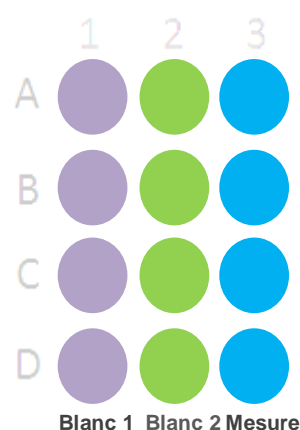
La plaque est ensuite incubée sous agitation 350 rpm à 37°C / 5min, les densités optiques sont mesurées à 405 nm à des pas de temps précis comme suit :

- Mesure cinétique : après 5 minutes d'incubation faire des lectures toutes les 30 secondes pendant 12 minutes (de 300 s jusqu'à 1020s)
- Mesure continue : après les mesures en mode cinétique faire des lectures toutes les 5 minutes pendant 35 minutes.

3.2.6.5. Evaluation de la concentration en MCs

Cette méthode biochimique permet un screening global des MCs sans distinction des différents variants de ces hépatotoxines. Une gamme de concentration de standards de microcystine-LR a été préparée à chaque test afin de réaliser notre courbe d'étalonnage (résultats exprimés en $\mu\text{g L}^{-1}$ d'équivalent MC-LR). Ensuite nous avons préparés un ensemble de blancs (blanc solvant, blanc tampon, blanc enzyme).

- Blanc Solvant : 10 μL de méthanol dans 490 μL Tampon Supplémenté BSA-DDT (100 μL dans chaque puits)
- Blanc Tampon : Tampon Supplémenté BSA-DDT (100 μL dans chaque puits)
- Blanc Enzyme : Tampon Supplémenté BSA-DDT (50 μL dans chaque puits lignes A et H)



Le remplissage de la microplaque se fait selon le schéma présenté dans la Figure 5, les volumes sont disposés comme suit:

- 100 µL blanc méthanol dans A à D
- 100 µL de la gamme MC-LR dans 2 à 11 et de A à D
- 100 µL de chaque échantillon (extrait de MCs) dans 1 à 12 et de E à H
- 100 µL Tp sup dans la colonne 12 de A à D
- 50 µL solution d'enzyme PP1a dans tous les puits sauf la ligne A et H
- 50 µL tampon supplémenté BSA-DTT dans tous les puits
- 50 µL solution de substrat dans tous les puits

La microplaque est ensuite incubée dans un agitateur pour microplaque à 37 °C pendant 5 mn avec agitation à 350 rpm et pendant 55 mn sans agitation. Les densités optiques sont mesurées à 405 nm. La courbe d'étalonnage est tracée par la suite sur excel et les concentrations correspondantes aux DO relevées des échantillons sont calculées.

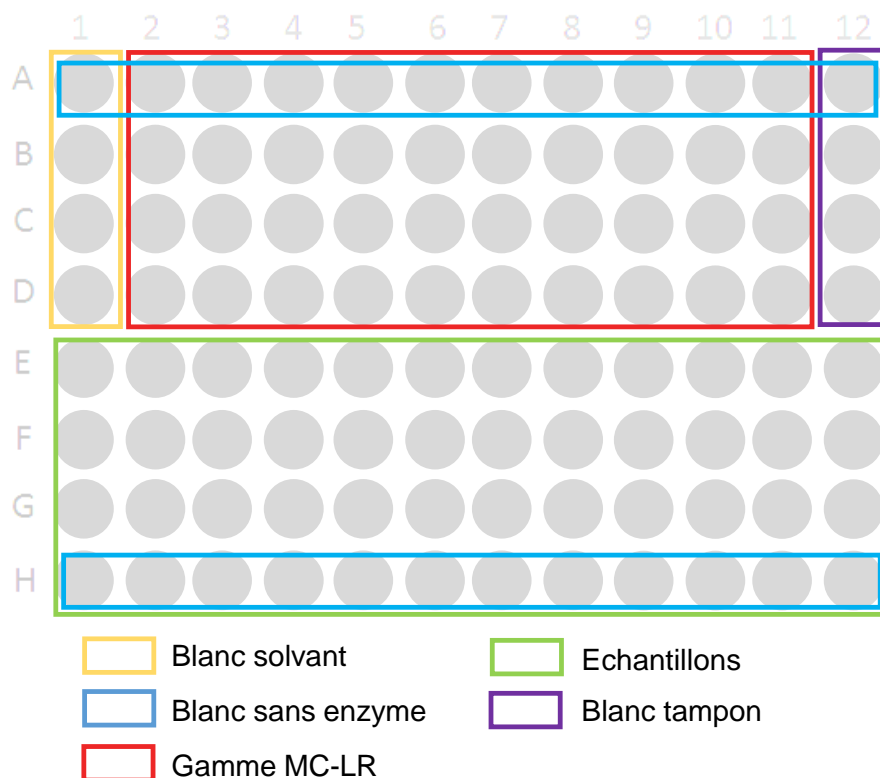


Figure 5. Schéma illustrant la répartition des différentes solutions dans la microplaque (96 puits)

3.2.7. Analyse statistique

L'analyse multivariée en composante principale (ACP) a été réalisée sur l'ensemble des données physico-chimiques avec les packages « ADE4 » et « Factoextra ». Ainsi les variables retenues sont le pH, la conductivité, le pourcentage de saturation en O₂ dissous, la température de l'air et de l'eau, l'évaporation de l'eau, la turbidité, la profondeur de la Z_{eu}, la profondeur de la Z_m, la profondeur maximale de la colonne d'eau au centre, les concentrations des nitrates, nitrites, ions ammonium, orthophosphates et ions ferreux. Ce choix de l'ACP a été fondé sur le résultat du test de la normalité de la distribution des variables exploratoires retenues (Shapiro-Wilk). Le package Vegan du logiciel R et le logiciel Past ont été également utilisés pour le calcul des indices écologiques (richesse, Shannon-Weaver, Chao1). Pour finir, une analyse de la raréfaction a été réalisée également par le package Vegan.

3.3. Résultats

3.3.1. Profils verticaux et horizontaux des variations des paramètres physico - chimiques

3.3.1.1. Fluctuation des variables climatiques, conductivité et pH

Des variations saisonnières des données climatiques (température, pluviométrie) ont été observées en surface de la retenue Hammam Debagh avec des conséquences sur la conductivité qui montre une augmentation pendant la saison sèche probablement suite à l'évaporation de l'eau (Fig. 6). L'année 2015 est marquée par des fortes pluies prolongées (Décembre-Mars) en comparant avec l'année 2014 où nous avons noté un seul pic enregistré uniquement en mars. Ces fortes pluies sont accompagnées par les valeurs les plus basses de la conductivité durant toute la période d'étude.

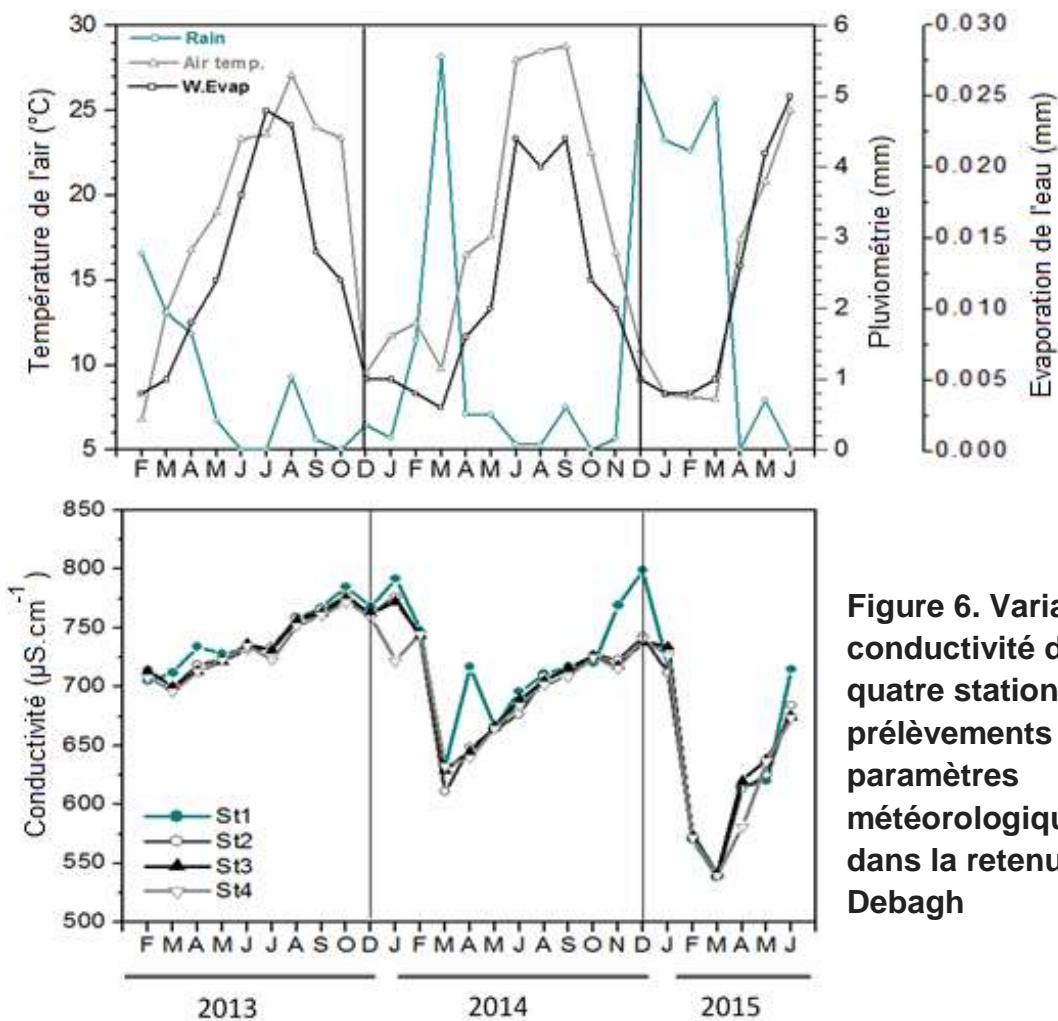


Figure 6. Variations de la conductivité dans les quatre stations de prélèvements (a) et des paramètres météorologiques (b-c) dans la retenue Hammam Debagh

En ce qui concerne l'évolution spatio-temporelle du pH, ce paramètre montre des fluctuations assez importantes entre 7,93 et 9,35 (Fig. 7). Durant toute la période d'étude, les valeurs minimales et maximales ont été enregistrées dans la station St4 en 2015 au mois de Janvier et d'Avril respectivement.

Cependant, durant les années 2013 et 2014 les pics de pH sont enregistrés au centre de la retenue Hammam Debagh (St3) en juillet et en avril respectivement.

Le profil vertical du pH montre des variations entre 7,51 à 9,2, les valeurs les plus basses sont enregistrées au fond de la retenue. L'année 2014 est caractérisée par des profils avec un écart plus important d'un mois à l'autre comparée à 2013 (Fig. 8).

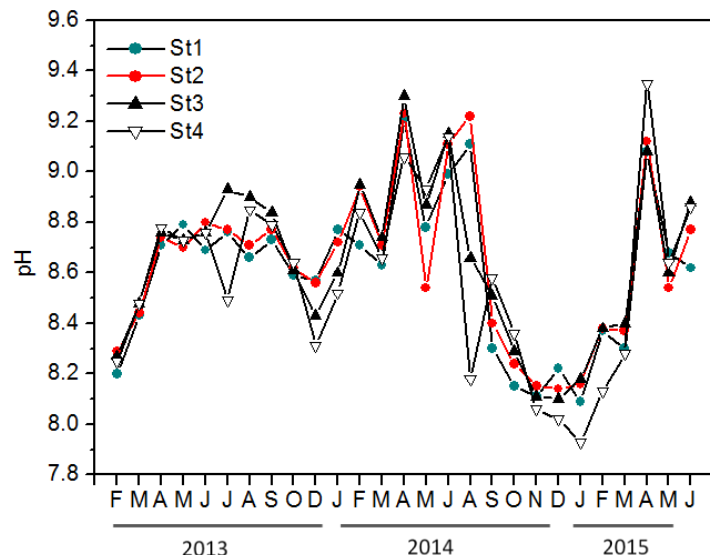


Figure 7. Variation spatio-temporelle du pH en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.

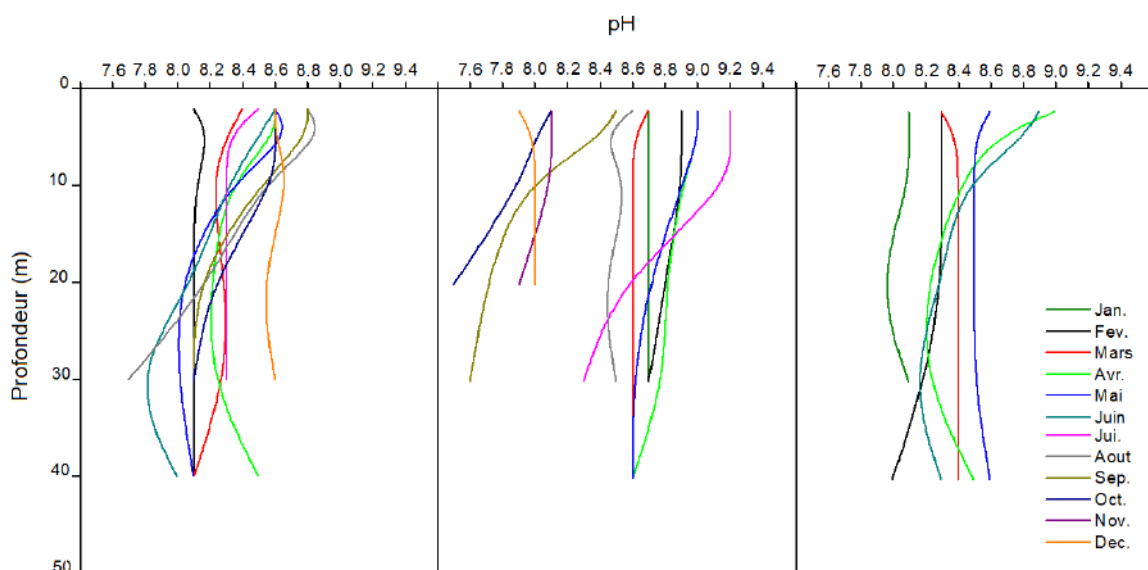


Figure 8. Profil vertical du pH durant les années 2013, 2014 et 2015 au centre de la retenue Hammam Debagh

3.3.1.2. Température et oxygène dissous

Globalement en sub-surface, la température de l'eau suit la même évolution saisonnière d'une année à l'autre (Fig. 9). A ceci s'ajoute des températures similaires généralement enregistrées dans l'ensemble des stations à l'exception du mois d'Aout 2013 où nous avons noté un pic de 28,8 °C dans la station St4 avec un écart allant jusqu'à 2,3 °C avec les autres stations de prélèvements.

L'hiver de l'année 2015 est caractérisé par les températures les plus basses durant toute la période d'étude allant jusqu'à 8,9 °C enregistrée en Février dans la station St1 qui se trouve proche de l'Oued Bouhamdane. Ces écarts de températures sont d'une moyenne de -1 °C entre 2015 et 2013 et d'une moyenne de 2 °C entre 2015 et 2014.

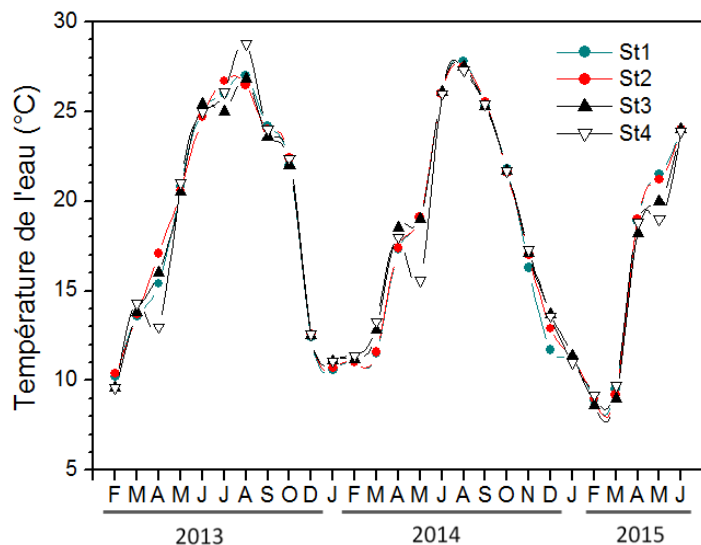


Figure 9. Variation spatio-temporelle de la saturation en O₂ dissous enregistrée en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.

Dans la colonne d'eau, la stratification thermique débute en Avril et dure jusqu'au mois de Septembre ou Octobre selon les années (2013 et 2014 respectivement). C'est aux mois de Juillet et d'Aout où l'écart de température entre l'épilimnion et l'hypolimnion est à son maximum, avec des écarts allant jusqu'à 15 °C enregistré en Aout 2014 (Fig. 10).

En 2015, l'ampleur de cet écart de température entre les deux couches limniques est déjà visible en juin (15,2 °C). En effet, non seulement les températures de fond étaient les plus basses durant toute la période d'étude (7,8 °C à 30m en Février 2015) mais aussi elles étaient maintenues stables autour de 8 °C entre Février et Juin 2015.

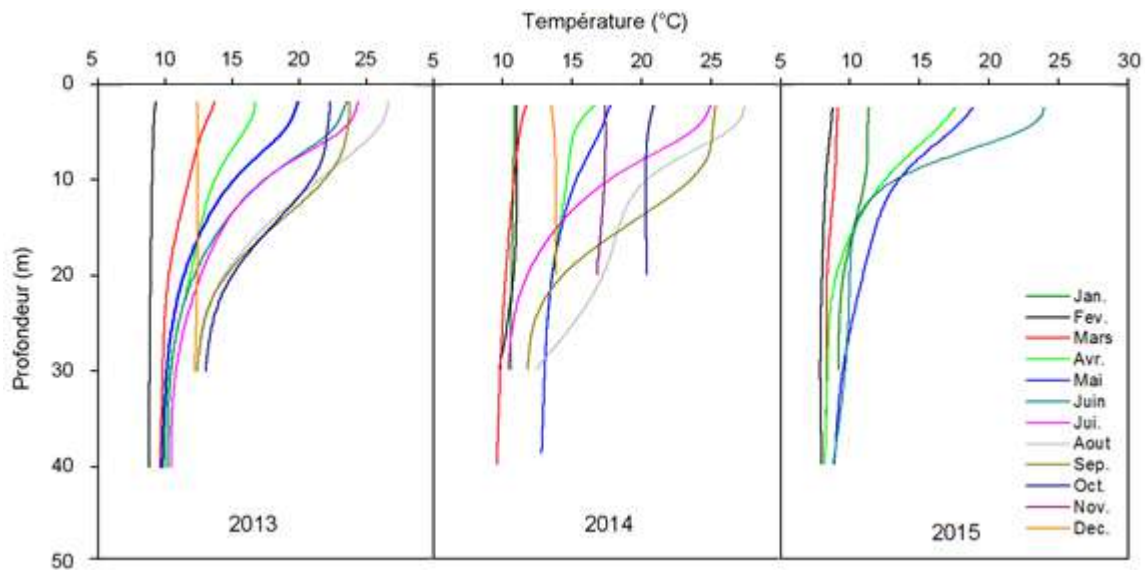


Figure 10. Variation du profil de la température centre de la retenue Hammam Debagh (St3)

Dans la retenue Hammam Debagh, l'Oxygène dissous montre des fluctuations assez importantes d'une année à l'autre. En effet, l'année 2015 est marquée par les pourcentages de saturation en oxygène dissous les plus importants durant la période d'étude enregistrées en surface de la retenue dans la station St4 (170,4% ou 15,82 mg L⁻¹) (Fig. 11).

Il est important à signaler que même si la majorité des organismes aquatiques requièrent de l'oxygène pour leurs activités métaboliques, ce paramètre peut être limitant dans la colonne d'eau telle qu'en Septembre 2014 où nous avons enregistré au fond de la retenue des pourcentages de saturation en oxygène dissous inférieurs à 20% (18,1% correspondant à 1,93 mgL⁻¹ à 20 m et 13,7% correspondant à 1,48 mgL⁻¹ à 30 m) (Fig. 12). La mise en place d'une oxycline au fond de la retenue Hammam

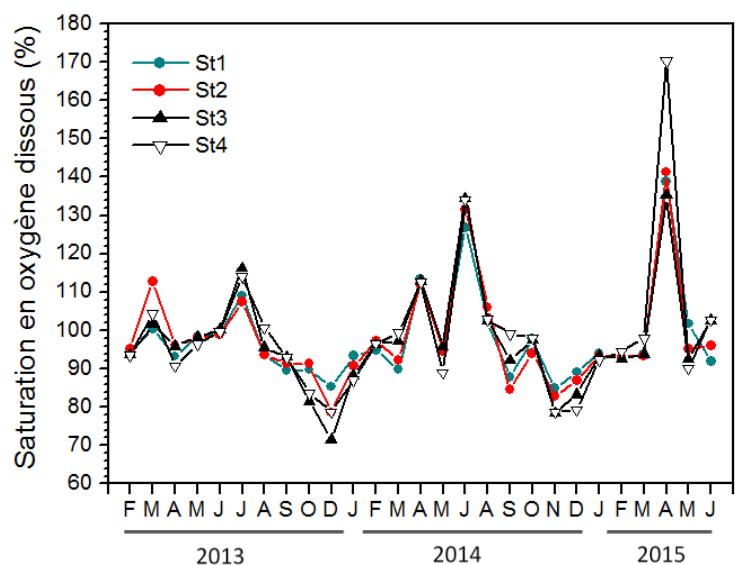


Figure 11. Variation spatio-temporelle de la saturation en O₂ dissous enregistrée en sub-surface de la retenue Hammam Debagh.

Debagh entre 20-30 m était accompagnée par la mort d'une centaine de poissons (Sandre) observés en surface de la retenue.

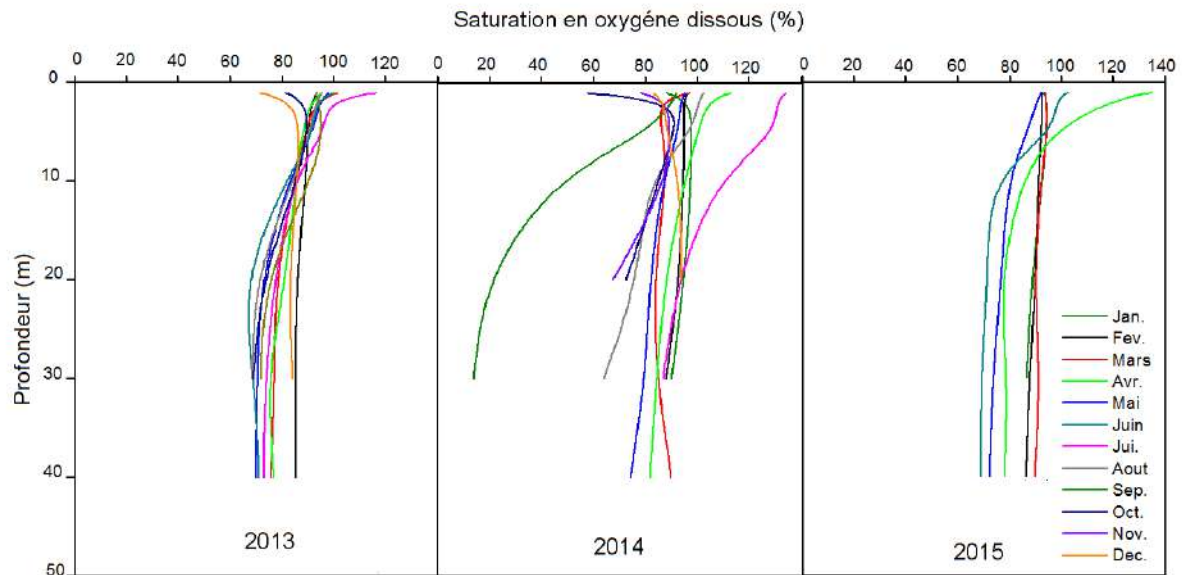


Figure 12. Variation temporelle de la saturation en O₂ dissous au centre de la retenue Hammam Debagh.

3.3.1.3. Zone de mélange et zone euphotique

Durant la période de la stratification thermique, la zone de mélange (Z_m) est localisée dans la première couche epilimnique qui se trouve généralement dans les premiers 5 m de la colonne d'eau (Fig. 13). En hiver, l'approfondissement de la zone de mélange qui s'étend progressivement sur toute la colonne d'eau aboutit à un mélange complet de celle-ci qui commence en Novembre-Décembre en 2013 et en Octobre en 2014. Ainsi, ce mélange unique dans l'année témoigne du caractère monomictique du réservoir Hammam Debagh selon la classification établie par Lewis (1983), (Fig. 14)

Il est important de noter que ces variations de la zone de mélange sont non seulement impactées par les fluctuations de la température de l'eau (et de l'aire) mais aussi par les variations de la profondeur de la retenue Hammam Debagh qui varient de -20 à -50 m.

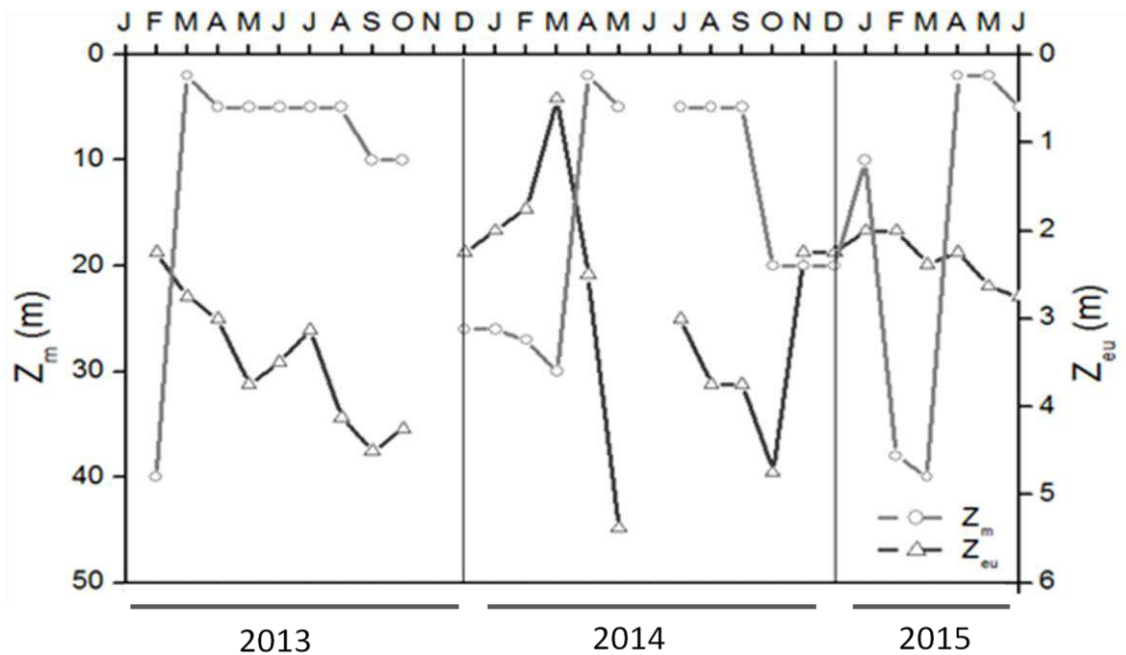


Figure 13. Variations de la zone de mélange et la zone euphotique au centre de la retenue (St3) Hammam Debagh

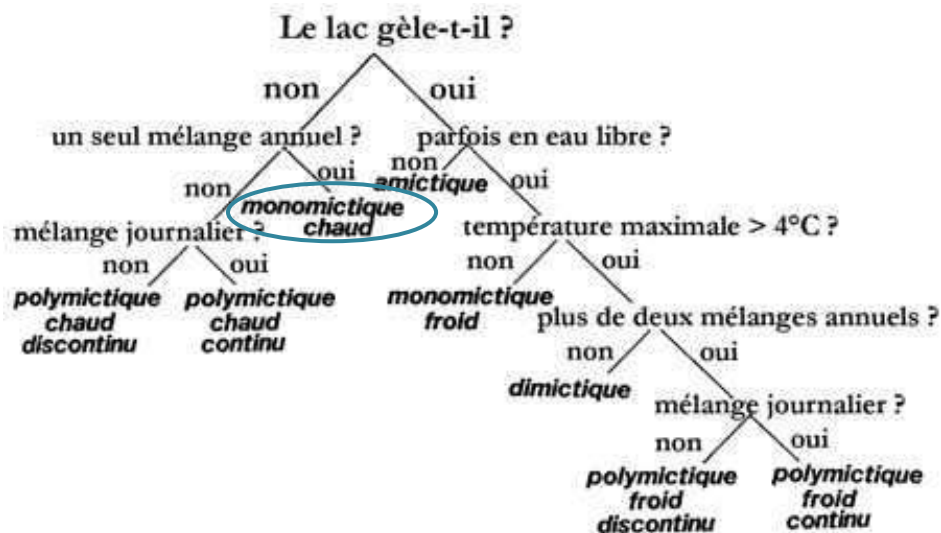


Figure 14. Diagramme décisionnel de la classification des lacs en fonction du mélange de la colonne d'eau

En ce qui concerne les variations de la profondeur de la Z_{eu} , il est connu que celles-ci sont liées à la fois au développement du phytoplancton et aux apports en MES (apports de l'Oued Bouhamdane). Dans notre site d'étude, la zone euphotique varie entre 0,5 et 5m sur les 3 années. Ces valeurs sont enregistrées en Mars et en Mai de la même année 2014 respectivement (Fig. 13). La profondeur la plus basse de la zone euphotique s'accompagne des valeurs les plus élevées de la turbidité au centre de la retenue allant jusqu'à 55NTU (Fig. 15).

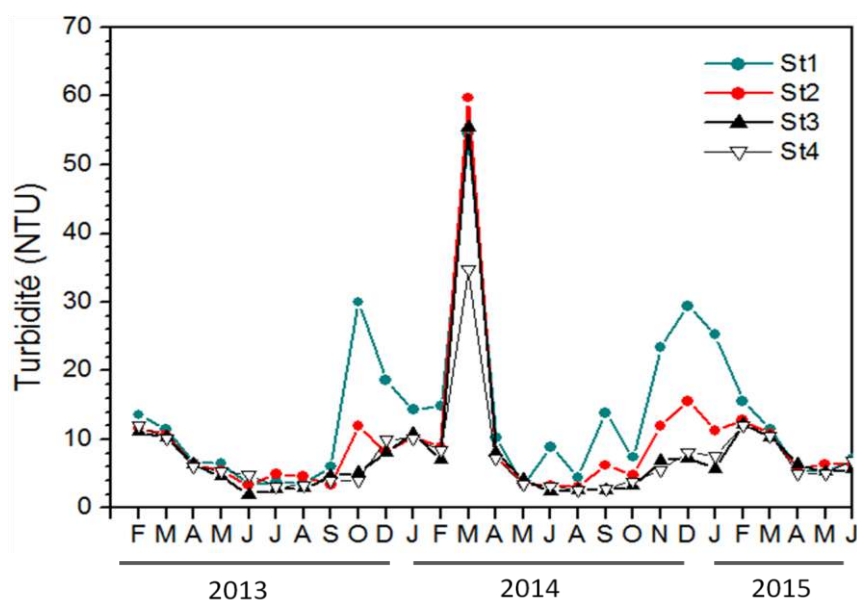


Figure 15. Variations de la turbidité en sub-surface de la retenue Hammam Debagh

3.3.1.4. Nutriments et les ions ferreux

En ce qui concerne les concentrations en nutriments, les orthophosphates qui sont connus comme étant une des variables clés pour prédire les proliférations des cyanobactéries sont limitants dans certaines périodes de l'année en sub-surface et dans la colonne d'eau (Fig. 16a, Fig. 17d). En effet, des concentrations proches de 0 ont été observées par exemple en Septembre 2013 et Aout 2014 dans l'ensemble des stations de prélèvements. En sub-surface, ce paramètre montre une moyenne

annuelle de $0,091 \text{ mg L}^{-1}$ avec une concentration maximale de $0,39 \pm 0,078 \text{ mg L}^{-1}$ observée en mars 2014.

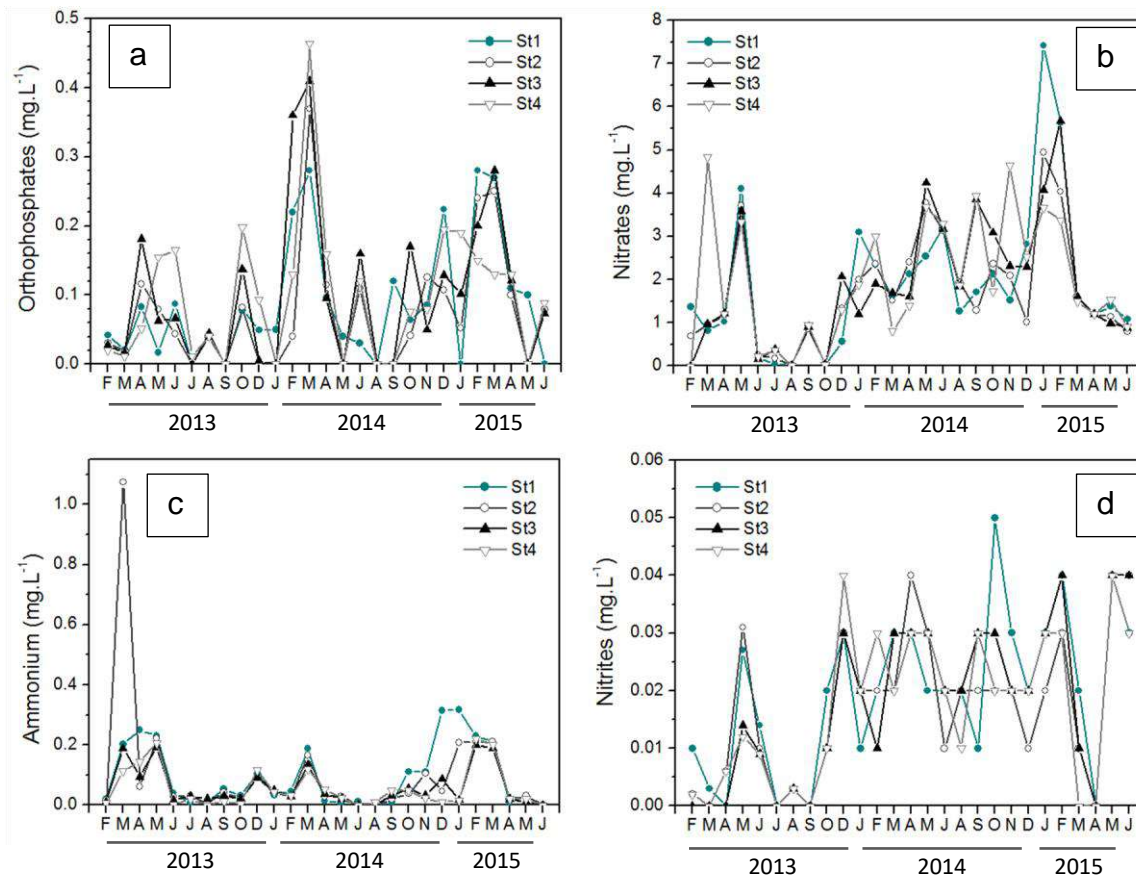


Figure 16. Variation spatio-temporelle des concentrations des nutriments

Quant aux NO_3 , des concentrations proches de 0 ont été également rapportées à certaines périodes de l'année telles que Aout 2013. Les concentrations les plus élevées en sub-surface sont enregistrées en Fevrier 2015 avec une concentration de $4,8 \pm 1,15 \text{ mg L}^{-1}$ (Fig. 16b), tandis que dans la colonne d'eau celle-ci a atteint $9,16 \text{ mg L}^{-1}$ à 30 m en Janvier 2015 (Fig. 17a).

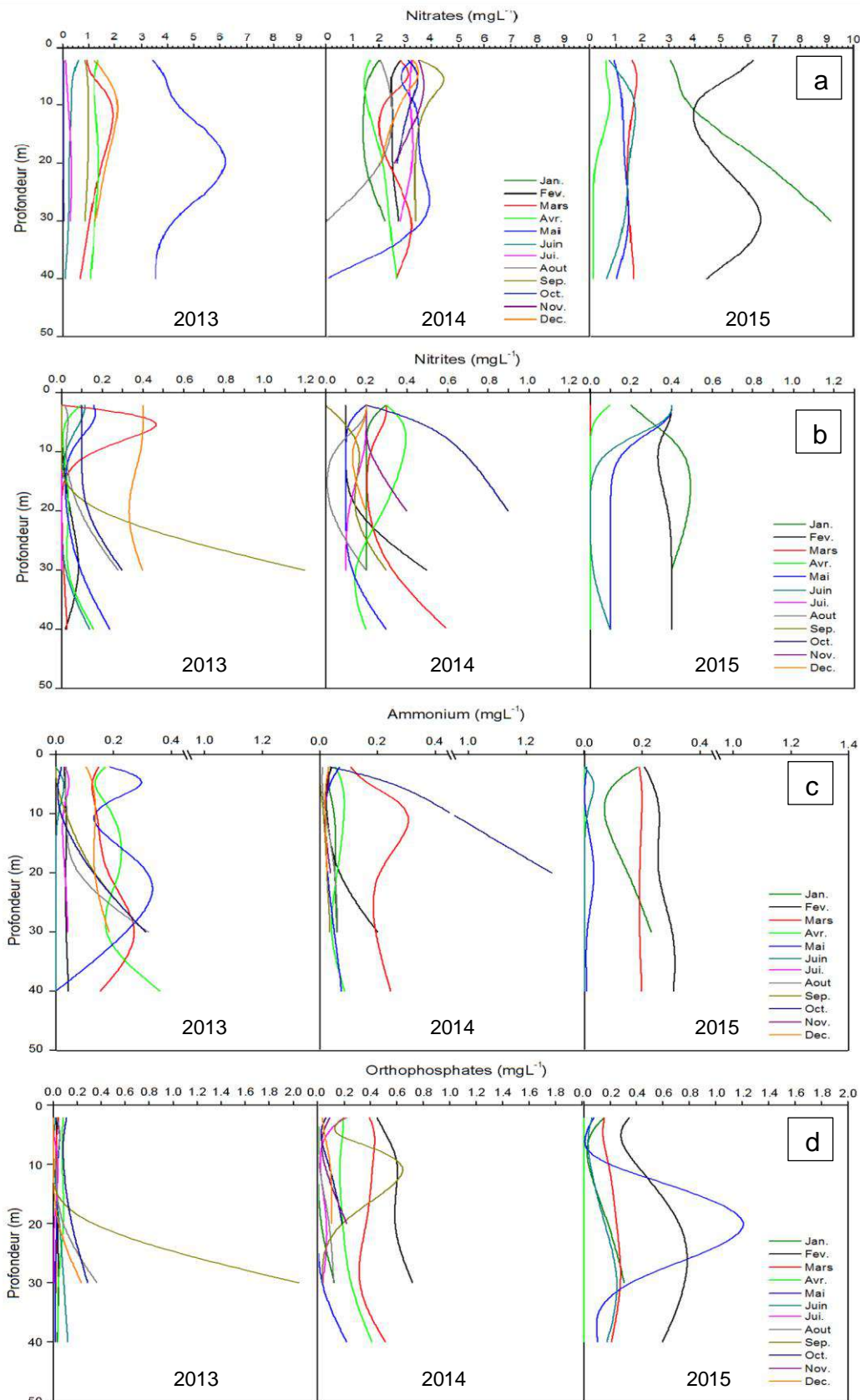


Figure 17. Variation spatio-temporelle des concentrations en nutriments au centre de la retenue Hammam Debagh

Les ions ferreux connus comme étant parmi les facteurs limitant de la prolifération des cyanobactéries, montrent souvent des valeurs inférieures ou proches de la limite de détection telle que observées entre Mai-Octobre 2014. Les pics sont enregistrés en Mars 2014 avec une concentration proche de 0,9 mg L⁻¹ dans la station St4 (Fig. 18) et 0,8 au fond de la retenue (26 m) en Septembre 2013 (Fig. 19).

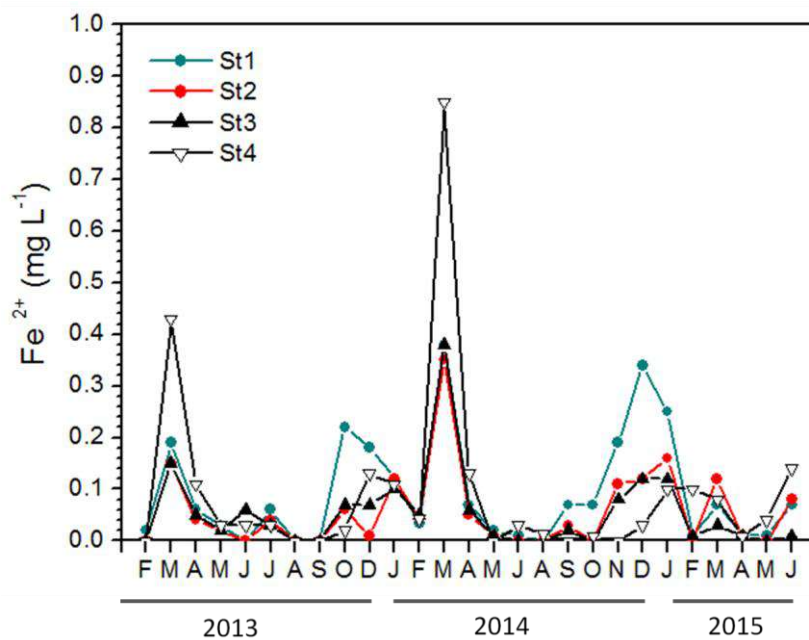


Figure 18. Variation spatio-temporelle des ions ferreux en sous-surface de la retenue Hammam Debagh.

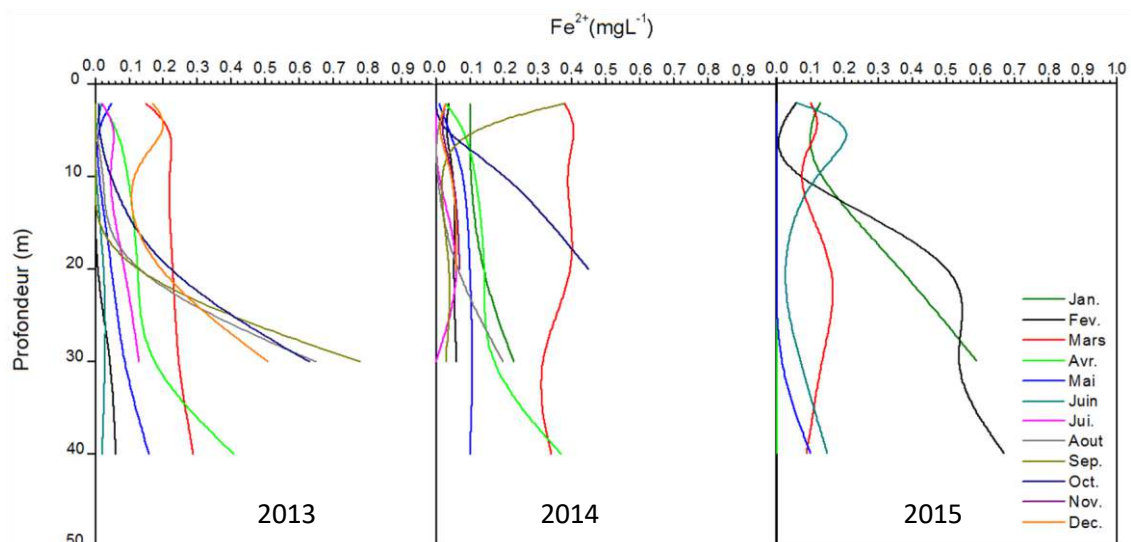


Figure 19. Variation temporelle des ions ferreux au centre de la retenue Hammam Debagh

3.3.2. Interactions entre les cyanobactéries et les variables environnementales

L'analyse en composante principale (ACP) réalisée sur l'ensemble des variables biotiques et abiotiques (Fig. 20a) a montré une opposition sur le premier axe (inertie = 38,8%) entre les variables pluviométrie, Zone de mélange, Turbidité et nutriments d'un côté et avec de l'autre côté de l'axe les variables de températures (eau et air), évaporation et Z_{eu} . Ceci suggère que la disponibilité des nutriments serait probablement liée aux événements de pluie.

Sur le deuxième axe de l'ACP (inertie= 18%), nous avons noté une opposition des variables conductivité d'un côté et saturation en l'oxygène dissous, pH et profondeur maximale de la colonne d'eau au centre de la retenue (Z_{max}) à l'opposé sur cet axe. Les cellules de *P. rubescens* et *Microcystis* sp. ont été également associées avec le second axe mais en opposition, ce qui suggère des interactions négatives de ces deux cyanobactéries. Ce positionnement suggère aussi que ces deux cyanobactéries ne sont pas associées aux nutriments. Par ailleurs, l'analyse en composante principale montre aussi une relation étroite entre *P. rubescens* et la variation de la profondeur maximale du réservoir Hammam Debagh.

Il est intéressant de noter, le caractère saisonnier de la dispersion des échantillons durant toute la période de l'étude (Fig. 20b). Nous avons également noté une large dispersion des échantillons entre janvier et avril en comparaison des autres mois de l'année.

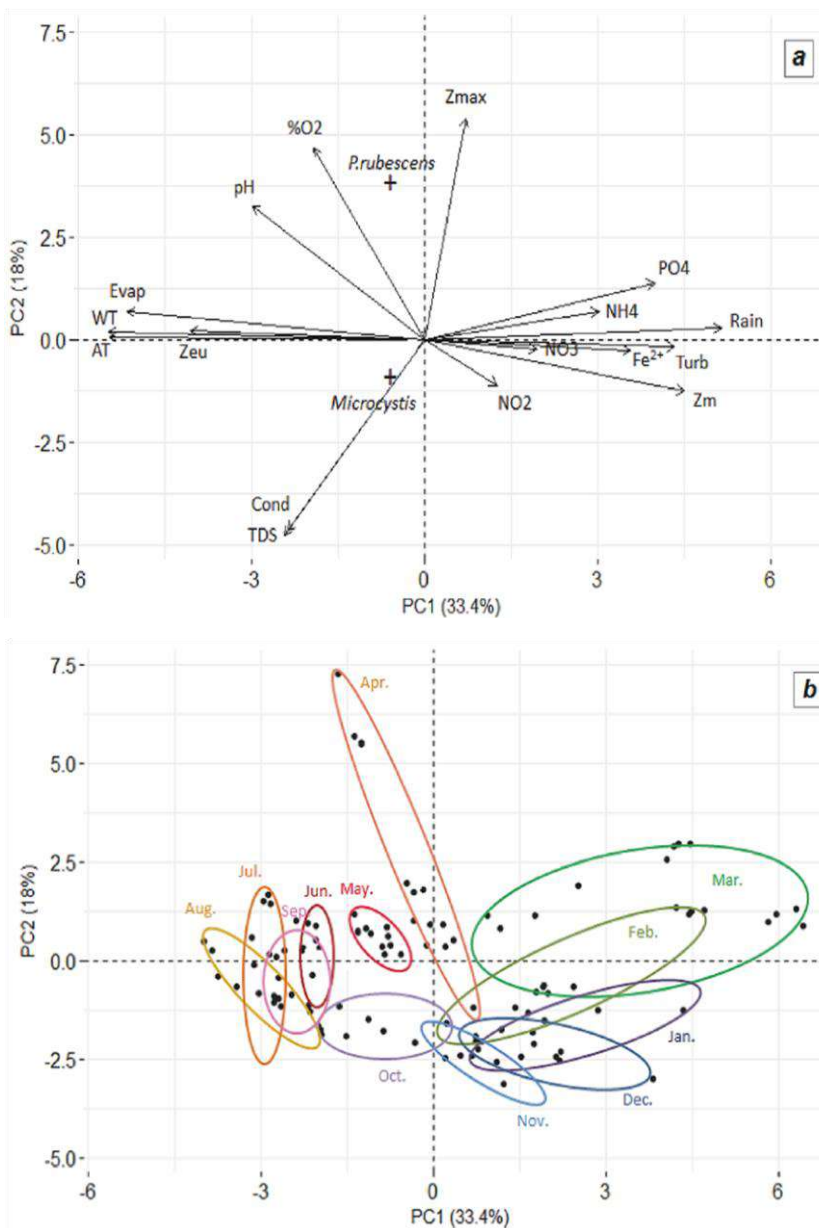


Figure 20. Analyse en composante principale (PCA) réalisée sur l'ensemble des paramètres environnementaux.

(a) Corrélations des facteurs environnementaux (flèche bleue) avec le plan factoriel formé par les deux premiers axes (b) indique la dispersion des différents échantillons (points noirs) sur le plan factoriel défini par les deux premiers axes, les échantillons sont regroupés par mois dans des ellipses. Les correspondances des abréviations sont pour Z_{max} : profondeur maximale, %O₂ : pourcentage de saturation en oxygène, Evap: évaporation, WT°C: température de l'eau, AT°C : température de l'air, Zeu: profondeur de la zone euphotique, Cond: conductivité, Z_m: zone de mélange, Turb: turbidité de l'eau

Pour finir, la projection des échantillons sur le plan factoriel (formé par les deux premiers axes), regroupés par station de prélèvement dans des ellipses (Fig. 21), montre que les résultats obtenus dans les quatre stations de prélèvements sont très proches et qu'il ne semble donc pas exister une structuration spatiale de ces variables dans le lac.

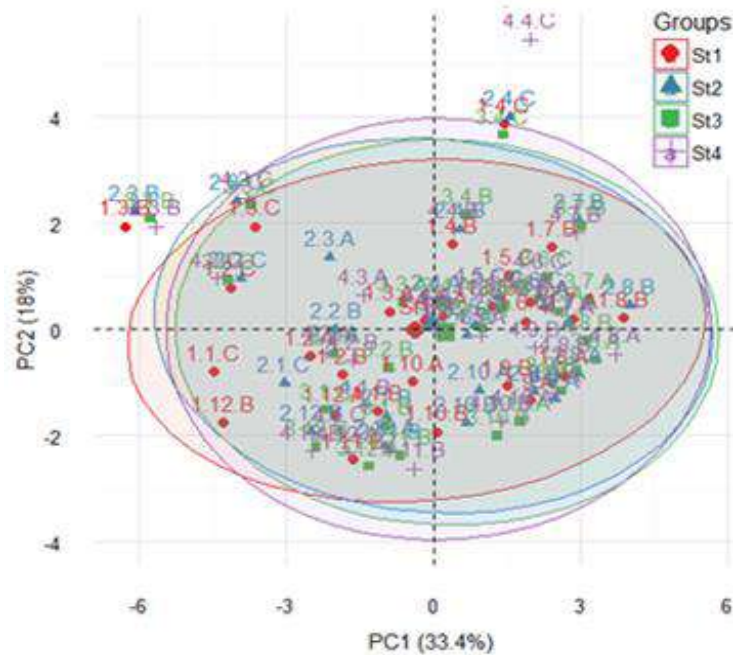


Figure 21. Analyse en composante principale (PCA) réalisée sur l'ensemble des paramètres environnementaux. Les échantillons distribués sur le plan factoriel (formé par les deux premiers axes) sont regroupés par station dans des ellipses.

3.3.3. Dynamique spatio-temporelle de *P. rubescens* et *Microcystis* sp.

3.3.3.1. Dynamique de la distribution des deux cyanobactéries en sub-surface

Deux cyanobactéries se distinguaient par leur dominance dans la retenue Hammam Debagh (*P. rubescens* et *Microcystis* sp. (Fig. 22).

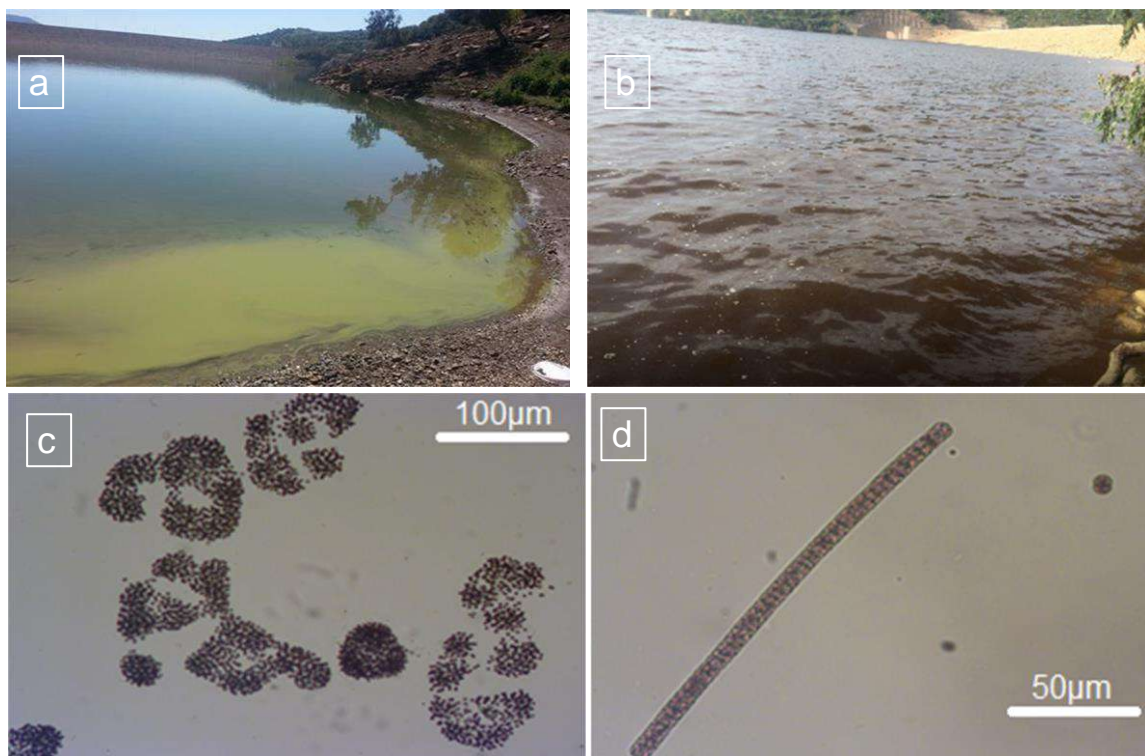


Figure 22. Aspect macroscopique et microscopique de *Microcystis* sp. (a,c) et *P. rubescens* (b,d). Les photos ont été prises le 18.04.2015 et le 05.05.2014 pour *P. rubescens* et *Microcystis* sp. respectivement. La figure b montre des bulles d'air à la surface de la retenue témoignant d'une activité photosynthétique.

La distribution horizontale des deux cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh montre une homogénéité dans l'ensemble des stations de prélèvement (Fig. 23). Par ailleurs, des variations spatiales se produisent occasionnellement lorsque les abondances de *P. rubescens* et de *Microcystis* sont faibles. Cette constatation valide notre choix de continuer à travailler sur la station d'échantillonnage située au centre

de la retenue (St3) pour les études sur la répartition verticale et la diversité horizontale des cyanobactéries.

En ce qui concerne la dynamique spatiotemporelle des communautés phytoplanctoniques au cours des 27 mois de prélèvements, les concentrations en chlorophylle-*a* varient des valeurs inférieures à la limite de détection ($0,09 \mu\text{g L}^{-1}$) à $34 \mu\text{g L}^{-1}$. Nous avons observé des profils assez semblables d'une année à l'autre, les concentrations maximales étant enregistrées au printemps (du mois d'avril à juin). Dans certains cas, ces concentrations élevées n'étaient pas toujours associées à une forte densité cellulaire de cyanobactéries (e.g. mai-juin 2013), ce qui suggère que les espèces de phytoplancton appartenant à d'autres groupes (les diatomées par exemple) peuvent avoir également une importante contribution dans la production primaire de la retenue Hammam Debagh.

Les deux cyanobactéries dominantes dans la retenue Hammam Debagh ont été principalement retrouvées de la fin de l'été (août ou septembre) jusqu'à la fin du printemps (mai). Les densités cellulaires maximales étaient plus élevées pour *Microcystis* sp. ($180\,000 \text{ cellules mL}^{-1}$ en octobre 2014) que pour *P. rubescens* ($12\,000 \text{ cellules mL}^{-1}$ en mars 2015). Les deux espèces ont été trouvées ensemble dans le réservoir au début de leur développement (de septembre à janvier), alors qu'à la fin de l'hiver et au printemps, l'une des deux était largement dominante. Ainsi *Microcystis* sp. était dominante au printemps 2014 tandis que l'espèce *P. rubescens* était dominante au printemps 2015.

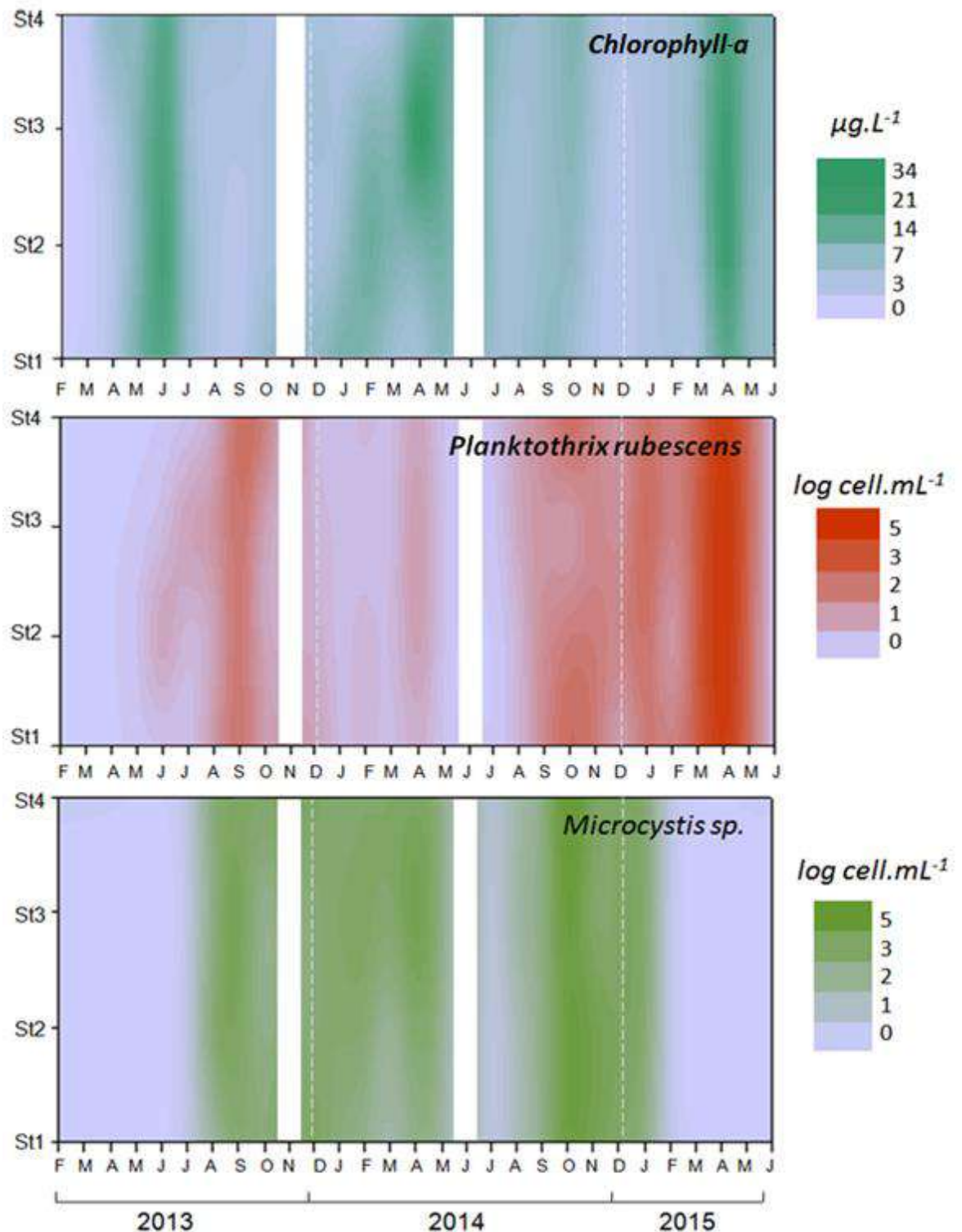


Figure 23. Variations spatio-temporales des abondances de *P. rubescens*, *Microcystis sp.* et de la Chlorophylle-a en sub-surface (1m) au niveau des quatre stations de prélèvements. L'interpolation a été obtenue en utilisant le logiciel Surfer Golden Software (v. 7.0, Golden Software Inc.)

3.3.3.2. Dynamique de la distribution verticale des deux cyanobactéries

La distribution verticale de *P. rubescens* et de *Microcystis sp.* au centre de la retenue (St3) montre que les deux cyanobactéries étaient réparties dans presque toute la colonne d'eau pendant leur période de développement (Fig. 24). La densité cellulaire maximale de *Microcystis* a été enregistrée pendant les périodes de mélange de la colonne d'eau (hiver 2013 et 2014), tandis que la densité cellulaire maximale de *P. rubescens* a été observée lors de la stratification de la colonne d'eau au printemps 2015.

Une transition de dominance a été observée entre octobre 2014 et mai 2015. En effet, *Microcystis sp.* était dominante entre octobre 2014 et janvier 2015, ce qui concordait avec une profondeur maximale du réservoir d'environ 20-25 m alors que *P. rubescens* était dominante de février à mai 2015 où il avait été observé durant cette période une augmentation rapide de la profondeur maximale de la retenue jusqu'à 40-50 m en raison d'une importante pluviométrie (Fig. 6).

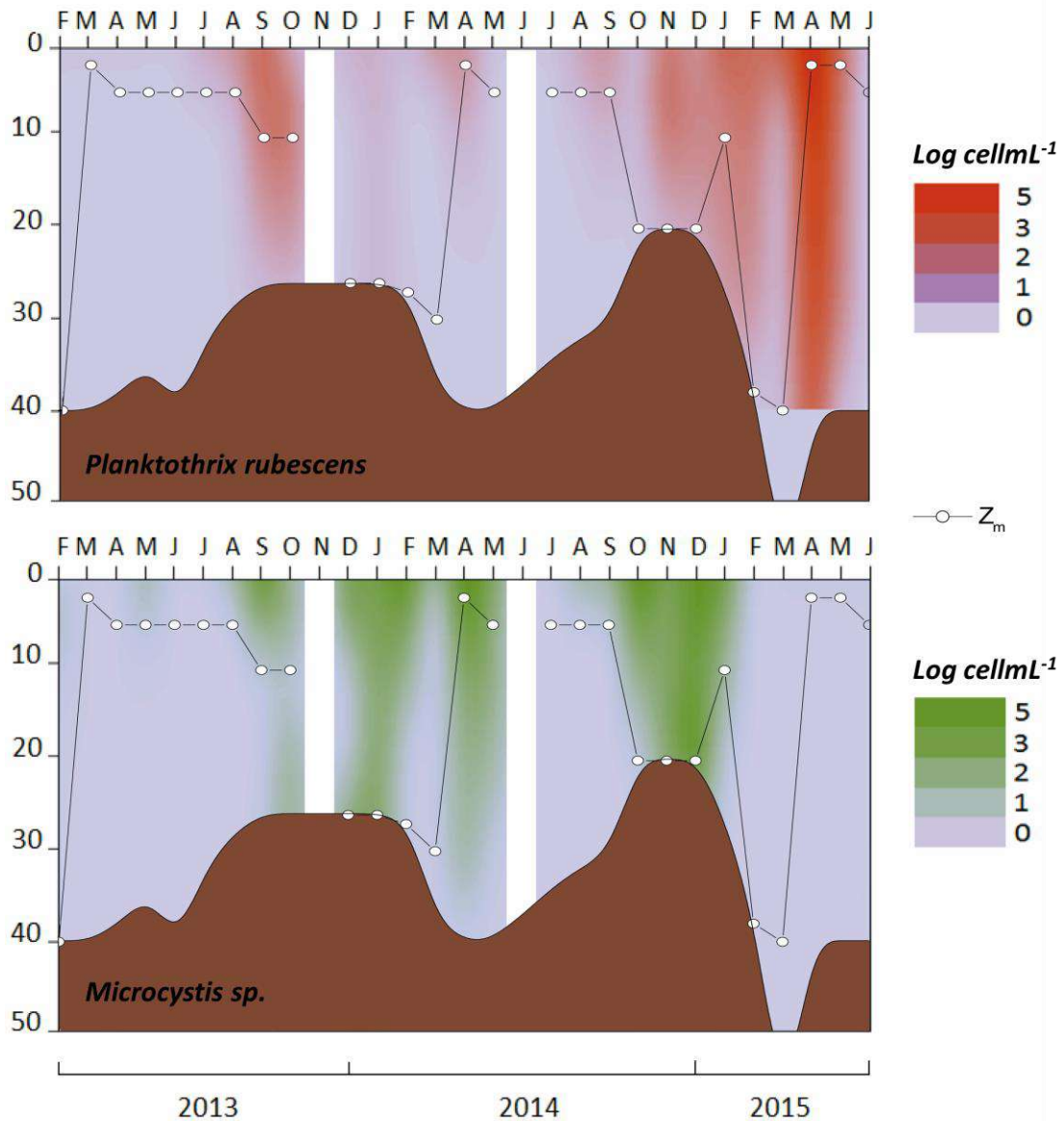


Figure 24. Variation de la distribution verticale de *P. rubescens*, *Microcystis sp.* et de la concentration en Chlorophylle-a dans la colonne d'eau au centre de la retenue Hammam Debagh (St3). L'interpolation a été obtenue en utilisant le logiciel Surfer Golden Software (v. 7.0, Golden Software Inc.). La profondeur de la zone de mélange est indiquée dans la figure (trait noir avec cercles blancs). La couleur marron se réfère à la variation de la profondeur de la retenue d'un mois à l'autre.

3.3.4. Variations temporelles des proportions de cyanobactéries dans la retenue

La migration des produits de PCR sur le gel d'agarose a permis d'observer des bandes au même niveau de la taille du standard de PM autour de 300 pb (Fig. 25) ce qui correspond à la taille de la région amplifiée (344 pb).

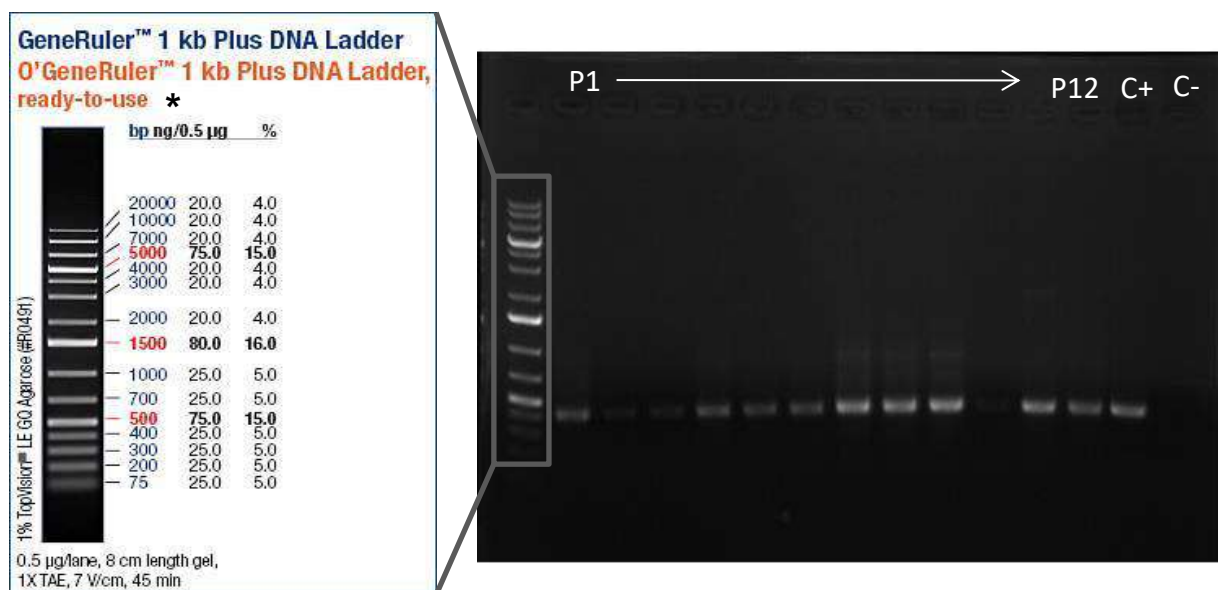


Figure 25. Migration des produits de la PCR sur gel d'agarose. * correspond aux standards du poids moléculaire

Dans le but d'avoir une description profonde des communautés de cyanobactéries rencontrées dans la retenue Hammam Debagh, une caractérisation moléculaire basée sur un séquençage à haut débit de la région V3-V4 de l'ADNr 16S a été réalisée.

Le nombre total de séquences obtenus (reads) pour les échantillons séquencés variait entre 527 et 53341 (Tableau 4). Sur l'ensemble des séquences obtenues, l'ordre des Chroococcales était le plus dominant avec 78% des séquences suivis par les Oscillatoriales 13%, Pleurocapsales 8% et Nostocales 1%.

Plus précisément, à l'échelle de l'espèce (ou du genre), nous avons identifié 89 cyanobactéries. L'espèce *Microcystis wesenbergii* dominait les communautés de cyanobactéries durant toute la période d'étude à l'exception du mois de janvier 2014

où nous avons observé une dominance de *Chroococcidiopsis* sp. avec 69% du nombre de séquences obtenues (Fig. 26).

Durant la période d'étude concernée, nous avons également observé la présence d'espèces connues pour leurs capacités de fixation de l'azote atmosphérique appartenant principalement aux genres *Dolichospermum*, *Chrysochloris* et *Aphanizomenon*. Néanmoins, nous avons noté de faibles abondances de celles-ci.

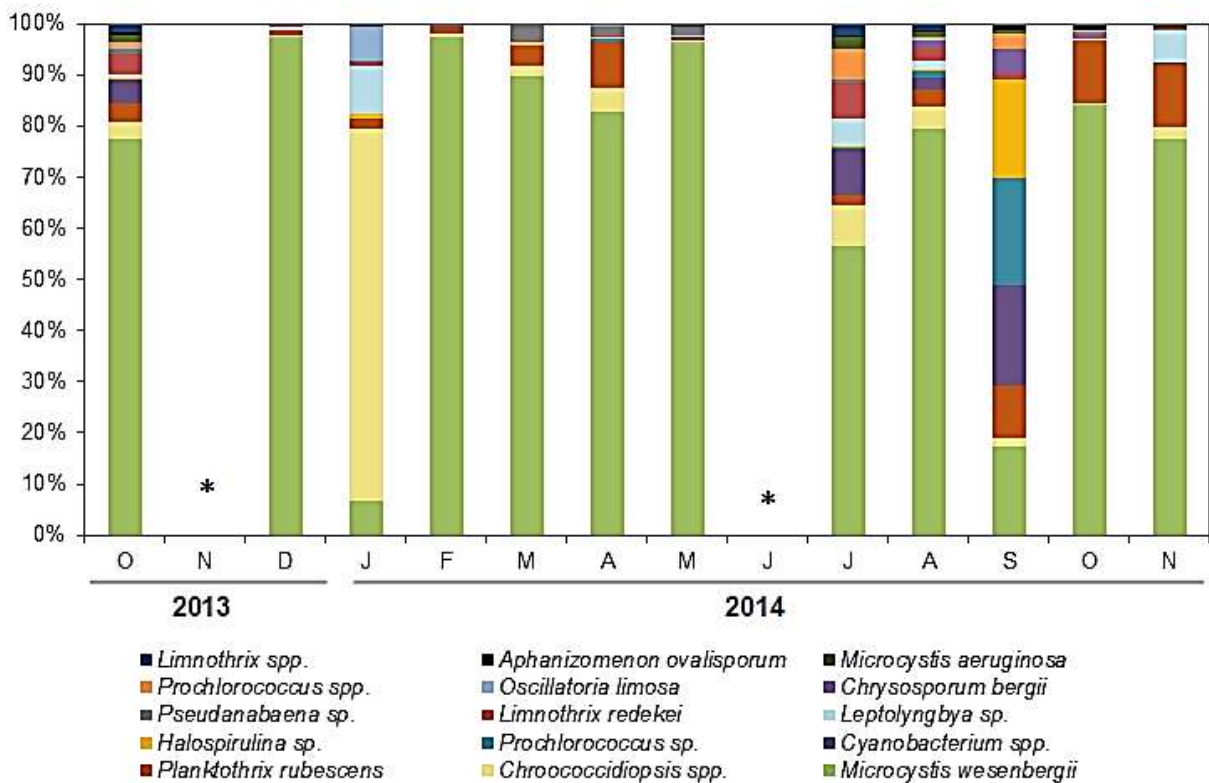


Figure 26. Proportions des nombres de séquences des cyanobactéries les plus fréquentes (top 15). Le nombre de séquences obtenues a été sous-échantillonné de façon aléatoire pour obtenir au final un nombre de séquences égal au plus petit nombre de séquence ($n = 1367$ reads) dans chaque échantillon.

3.3.5. Etude de la richesse et la diversité des communautés de cyanobactéries

La richesse et la diversité des communautés de cyanobactéries déterminées au niveau de l'espèce, ont été déterminé à partir des nombres d'espèces (richesse), l'indice Shannon-Weaver et Chao1 calculé à chaque mois échantillonné.

Durant la période concernée par l'analyse moléculaire des cyanobactéries (Tableau 5), la plus faible richesse spécifique est enregistrée en début d'hiver (décembre 2013) avec onze espèces. C'est en fin d'été que le plus grand nombre d'espèces a été observé (39 espèces enregistrées en aout 2014).

En ce qui concerne la diversité, nous avons noté de faibles valeurs dans les échantillons en raison de la forte dominance de *Microcystis wasenbergii*. De ce fait, les valeurs les plus élevées d'abondances (estimées en nombre de reads) sont accompagnées par les valeurs les plus faibles de l'indice Shannon. Cependant, en septembre 2014, une co-dominance de nombreuses espèces (Fig. 26) de cyanobactéries s'est traduite par une valeur maximale de l'indice de Shannon (H=2.04).

Tableau 5. Indices écologiques calculés après normalisation des échantillons par rapport à l'échantillon au plus petit nombre de séquences sans tenir compte du mois de Juillet (Aug= 1367 reads)

	2013			2014										
	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Fev.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Juil.*	Aout	Sep.	Oct.	Nov.
No total des Reads	2554 ±115	-	35330 ±2035	2849 ±123	28698 ±1614	13093 ±696	15548 ±742	7919 ±446	-	527 ±16	1367 ±58	2235 ±54	53341 ±2711	48810 ±2247
Richesse spécifique (S)	34 ±3	-	11 ±2	37 ±4	18 ±2	17 ±1	25 ±2	17 ±1	-	29 ±3	39 ±2	21 ±3	13 ±1	25 ±4
Chao 1	37.11 ±16.79	-	12.50 ±6.36	41.50 ±16.44	36.00 ±15.13	19.50 ±10.25	32.50 ±9.19	18.00 ±9.76	-	31.63 ±13.99	40.88 ±12.96	26.00 ±9.19	13.75 ±8.13	38.75 ±18.97
Shannon-Weaver (H)	1.23 ±0.13	-	0.19 ±0.07	1.32 ±0.12	0.30 ±0.08	0.56 ±0.10	0.89 ±0.11	0.3 ±0.09	-	1.98 ±0.18	1.48 ±0.14	2.04 ±0.07	0.62 ±0.09	0.97 ±0.10

3.3.6. Comparaison de l'approche moléculaire et l'approche microscopique

Les résultats de l'analyse moléculaire exprimés en nombre de séquences (du fragment V3-V4 de l'ADNr16S) correspondant aux deux cyanobactéries étudiées (*P. rubescens* et *Microcystis sp.*) et les comptages de ces deux même cyanobactéries sous microscope étaient dans l'ensemble en concordance sauf lorsque les abondances cellulaires étaient faibles telle qu'en Janvier ou en mars 2014 (Fig. 27). Ces observations sont confirmées par les corrélations positives et très hautement significatives observées en comparant les résultats des deux approches pour la même cyanobactérie (*P. rubescens* : $r= 0,71$, $p<0.001$; *Microcystis* : $r= 0,84$, $p<0.001$).

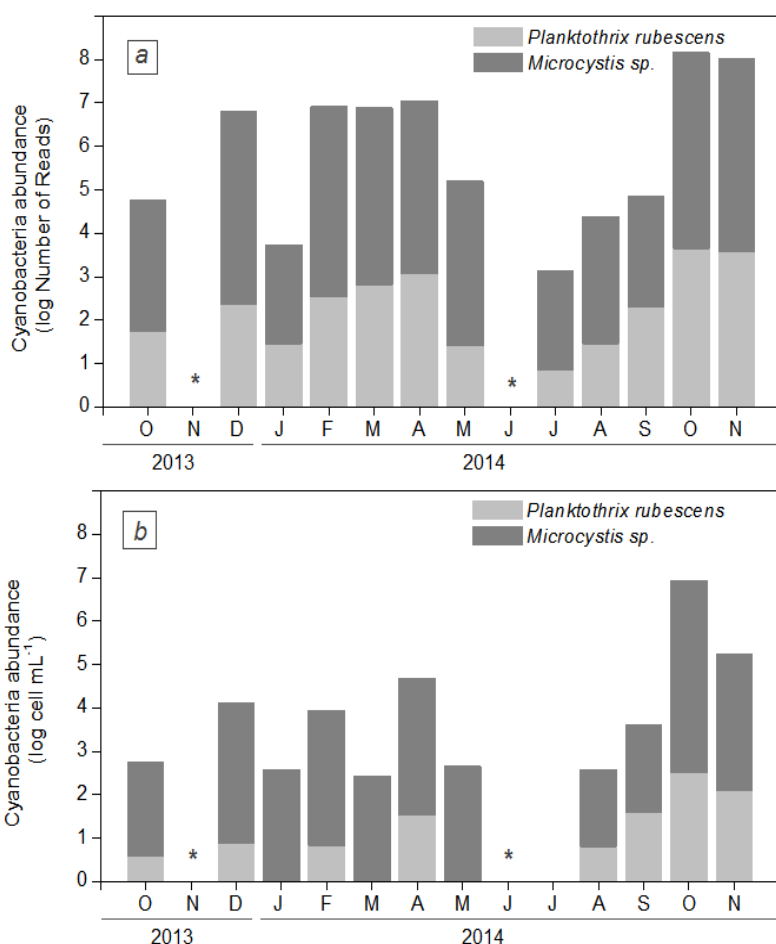


Figure 27. Comparaison des abondances de *P. rubescens* et *Microcystis sp.* estimées par l'approche microscopique et par l'approche moléculaire entre Octobre 2013 et Novembre 2014.

(a) Indique le nombre des séquences de *P. rubescens* et *Microcystis sp.* obtenues par un séquençage massif Illumina MiSeq. (b) montre les variations temporelles des abondances cellulaires de *P. rubescens* et *Microcystis sp.*, le nombre de cellules par mL est indiqué après calcul de la médiane à partir des 4 stations de prélèvements.

3.3.7. Variation spatiotemporelles des teneurs en microcystines

Le tableau 6 présente les résultats obtenus des tests d'inhibition de l'enzyme PP1a dans 57 extraits des échantillons prélevés en sub-surface de la retenue durant la période allant de mai 2013 au mois d'avril 2015. Nos résultats montrent une réponse positive de l'inhibition de l'activité catalytique de l'enzyme PP1a dans 44 extraits. Cependant, les teneurs en microcystines étaient très faibles et n'excédaient jamais la valeur guide préconisée par l'OMS ($1 \mu\text{g L}^{-1}$). Les teneurs maximales étaient de l'ordre de $0,36 \mu\text{g L}^{-1}$ enregistrées dans la station St3 en avril 2014. Une faible corrélation positive a été observée entre les abondances cellulaires des deux cyanobactéries et les teneurs en microcystines enregistrées dans la retenue Hammam Debagh ($r=0,33$; $N=57$, $p<0,01$).

Tableau 6. Variation des teneurs en microcystines (eq. MC-LR) en sub-surface.

Mois/Année	Station de Prélèvement	Réponse toxique	Eq MC-LR ($\mu\text{g/L}$)	Ecartype	Taxa majoritaires
May-13	St2	+	0,033	0,011	<i>Pseudanabaena sp.</i>
May-13	St3	+	0,074	0,058	<i>Pseudanabaena sp.</i>
Jun-13	St2	+	0,081	0,021	<i>Pseudanabaena sp.</i>
Jun-13	St3	+	0,036	-	<i>Planktothrix rubescens</i>
Jul-13	St2	-	0,000	0,000	<i>Pseudanabaena sp.</i>
Oct-13	St1	+	0,040	0,012	<i>Microcystis sp.</i>
Oct-13	St2	+	0,190	0,129	<i>Microcystis sp.</i>
Oct-13	St3	+	0,021	0,012	<i>Microcystis sp.</i>
Oct-13	St4	+	0,148	0,168	<i>Microcystis sp.</i>
Dec-13	St1	+	0,092	-	<i>Microcystis sp.</i>
Dec-13	St3	+	0,088	0,024	<i>Microcystis sp.</i>
Dec-13	St4	+	0,045	-	<i>Microcystis sp.</i>
Jan-14	St1	+	0,028	0,024	<i>Microcystis sp.</i>
Jan-14	St2	+	0,098	-	<i>Microcystis sp.</i>
Jan-14	St3	+	0,068	-	<i>Microcystis sp.</i>
Jan-14	St4	+	0,134	0,017	<i>Microcystis sp.</i>
Feb-14	St1	+	0,059	-	<i>Microcystis sp.</i>
Feb-14	St2	+	0,026	0,018	<i>Microcystis sp.</i>
Feb-14	St3	+	0,022	0,013	<i>Microcystis sp.</i>
Feb-14	St4	+	0,026	-	<i>Microcystis sp.</i>
Mar-14	St1	+	0,057	0,062	<i>Microcystis sp.</i>
Mar-14	St2	+	0,046	0,021	<i>Microcystis sp.</i>
Mar-14	St3	+	0,027	0,003	<i>Microcystis sp.</i>
Mar-14	St4	+	0,026	0,002	<i>Microcystis sp.</i>

Apr-14	St1	+	0,058	0,017	<i>Microcystis</i> sp.
Apr-14	St2	+	0,317	0,471	<i>Microcystis</i> sp.
Apr-14	St3	+	0,361	0,369	<i>Microcystis</i> sp.
Apr-14	St4	+	0,039	-	<i>Microcystis</i> sp.
Aug-14	St1	+	0,041	-	<i>Microcystis</i> sp.
Aug-14	St2	-	0,000	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Aug-14	St3	-	0,000	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Aug-14	St4	-	0,000	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Sep-14	St1	+	0,062	-	<i>Microcystis</i> sp.
Sep-14	St2	+	0,021	-	<i>Microcystis</i> sp.
Sep-14	St3	-	0,000	-	<i>Microcystis</i> sp.
Sep-14	St4	-	0,000	-	<i>Microcystis</i> sp.
Oct-14	St1	+	0,163	0,185	<i>Microcystis</i> sp.
Oct-14	St2	+	0,014	0,001	<i>Microcystis</i> sp.
Oct-14	St3	+	0,138	0,142	<i>Microcystis</i> sp.
Oct-14	St4	+	0,249	0,163	<i>Microcystis</i> sp.
Dec-14	St1	-	0,000	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Dec-14	St2	+	0,016	0,001	<i>Microcystis</i> sp.
Dec-14	St3	+	0,012	0,002	<i>Microcystis</i> sp.
Dec-14	St4	+	0,062	-	<i>Microcystis</i> sp.
Jan-15	St1	+	0,030	-	<i>Microcystis</i> sp.
Jan-15	St2	-	0,000	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Jan-15	St3	+	0,007	0,000	<i>Microcystis</i> sp.
Jan-15	St4	+	0,028	0,029	<i>Microcystis</i> sp.
Feb-15	St1	-	0,000	0,000	<i>Planktothrix rubescens</i>
Mar-15	St1	-	0,000	0,000	<i>Planktothrix rubescens</i>
Mar-15	St2	+	0,022	-	<i>Planktothrix rubescens</i>
Mar-15	St3	+	0,008	-	<i>Planktothrix rubescens</i>
Mar-15	St4	-	0,000	0,000	<i>Planktothrix rubescens</i>
Apr-15	St1	-	0,000	0,000	<i>Planktothrix rubescens</i>
Apr-15	St2	+	0,185	0,187	<i>Planktothrix rubescens</i>
Apr-15	St3	+	0,042	-	<i>Planktothrix rubescens</i>
Apr-15	St4	-	0,000	0,000	<i>Planktothrix rubescens</i>

3.4. Discussion

L'approche moléculaire a permis de montrer que la communauté de cyanobactéries rencontrées dans le réservoir Hammam Debagh présente une richesse spécifique élevée avec 89 espèces identifiées. En ce qui concerne la diversité de cette communauté, nous notons en revanche qu'elle est très faible en raison de la grande dominance de *Microcystis*. Une telle dominance a déjà été rapportée dans d'autres réservoirs algériens utilisés pour la production d'eau potable (Nasri *et al.*, 2007; El Herry *et al.*, 2009) et dans les écosystèmes d'eau douce d'Afrique du Nord (Oudra *et al.*, 2001 ; Douma *et al.*, 2010).

Cette même approche a montré que 98% des séquences de *Microcystis* ont été assignées à *Microcystis wesenbergii*. En contraste avec d'autres morpho-espèces du genre *Microcystis*, celle-ci n'est pas connue pour produire des microcystines (Via-Ordorika *et al.*, 2004 ; Xu *et al.*, 2008) ce qui suggère à priori que les blooms de cette espèce ont un potentiel toxique inexistant. Cette hypothèse a été confirmée par les faibles teneurs en microcystines enregistrées dans la retenue durant notre période d'étude. Plus étonnant, nous n'avons pas non plus observé de concentrations importantes de microcystines pendant les périodes où *P. rubescens* était abondante alors que cette espèce est connue par sa production importante de microcystines dans les pays du Nord (Briand *et al.*, 2005). Ces résultats doivent être pris en compte dans les programmes de surveillance mis en œuvre dans le réservoir Hammam Debagh.

Durant la période concernée par l'analyse moléculaire des communautés de cyanobactéries, le genre *Microcystis* n'a pas été associé aux genres *Dolichospermum* et *Aphanizomenon*. En effet, ces deux genres ont été observés dans un nombre restreint des échantillons et à de faibles abondances. D'autre part, la présence de nombreuses séquences de *P. rubescens* dans la moitié des échantillons n'était pas attendue puisque cette cyanobactérie n'est pas connue pour occuper les mêmes écosystèmes que *Microcystis* (e.g. Reynolds *et al.*, 2002).

D'autre part, il est intéressant de constater qu'il y avait une bonne corrélation entre les variations des abondances de *Microcystis sp.* estimées par le comptage des cellules au microscope et les abondances de ce même genre estimé par le nombre de séquences des régions V3-V4 obtenues. De même pour *P. rubescens* une corrélation

positive a été notée pour les deux approches utilisées. Ces résultats sont en accord avec des travaux antérieurs (e.g. Amarouche-Yala *et al.*, (2014) pour les cyanobactéries, Tan *et al.*, (2015) pour les bactéries), ce qui suggère que les approches de séquençage à haut débit peuvent permettre d'évaluer l'abondance relative de diverses espèces, du moins lorsqu'elles appartiennent au même phylum.

En ce qui concerne la question de la co-occurrence inhabituelle et de la concurrence entre *Microcystis* sp. et *P. rubescens* et des conditions environnementales qui conduisent à la dominance de l'une ou de l'autre de ces deux espèces, il semble que plusieurs facteurs et processus pourraient être impliqués. Parmi ces facteurs, les variations de la profondeur du lac pourraient jouer un rôle majeur, en particulier pendant la période de mélange. En effet, les travaux de Dunton *et al.*, (2005) et de Holland *et al.* (2009) sur le collapse des vésicules gazeuses dans les cellules de *Microcystis* ont montré qu'à partir de 40m de profondeur, des pressions critiques peuvent être à l'origine de cet éclatement. D'autre part, les vésicules à gaz de *P. rubescens*, sont capables de résister à des pressions critiques comme cela a été démontré par D'Alelio *et al.* (2011) et Jacquet *et al.* (2005). Ces deux processus pourraient expliquer :

- (i) pourquoi les cellules de *Microcystis* ont disparu de la colonne d'eau à partir de février 2015 lorsque la profondeur maximale du lac a augmenté rapidement de 20 m à 40-50 m conduisant à une profondeur de mélange située autour de 40 m,
- (ii) pourquoi parallèlement à cela l'abondance cellulaire de *P. rubescens* a augmenté pour atteindre son maximum en avril 2015 et enfin,
- (iii) pourquoi à la même période en 2014 lorsque la profondeur de mélange était relativement stable en hiver et jamais inférieure à 30m, l'abondance de *Microcystis* a progressivement dépassé celle de *P. rubescens*.

En plus de ces variations de la profondeur de mélange, la période de la fin d'hiver et le début du printemps s'est caractérisée par des fluctuations importantes des paramètres physico-chimiques. A ce jour, très peu de publications concernant les besoins de *P. rubescens* en nutriments sont disponibles en comparaison avec la masse des travaux disponibles pour *Microcystis* sp. (e.g. Dolman *et al.*, 2012). De plus, les espèces du genre *Microcystis* sont connues pour leur occupation des milieux eutrophisés contrairement à *P. rubescens* qui occupe les milieux mésotrophes. Par déduction, *Microcystis* devrait donc dominer les communautés de cyanobactéries lorsque les concentrations en nutriments sont élevées. Paradoxalement, l'espèce *P. rubescens* était dominante en printemps 2015 et *Microcystis* durant le printemps 2014.

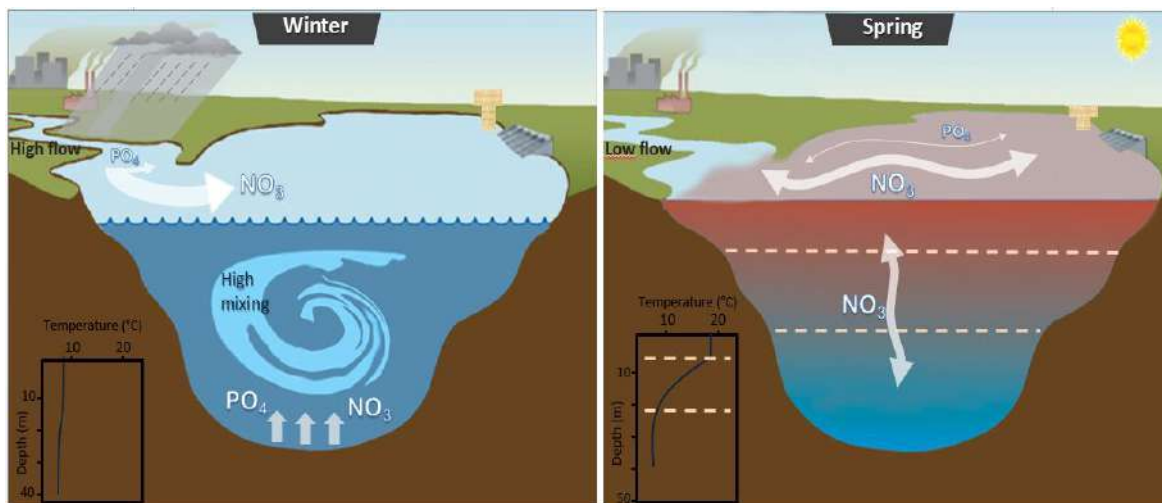


Figure 28. Diagramme conceptuel illustrant les principaux facteurs environnementaux contribuant au succès adaptatif de *Planktothrix rubescens* dans la retenue Hammam Debagh. La couleur rouge brun dans l'eau représente la dispersion de *P. rubescens*.

En effet, en début de printemps 2015 nous avons enregistré des concentrations élevées en orthophosphates et les plus élevées en nitrates. Ces augmentations des teneurs en PO_4 et en NO_3 pourraient être la résultante de l'importante pluviométrie observée en cette période. A ceci s'ajoute, les températures les plus faibles de l'eau enregistrées en février et mars 2015 par rapport à la même période en 2014 qui pourraient contribuer au succès de *P. rubescens* en 2015 (Fig. 28). En effet, Wu *et al.* (2010) notent à partir des expérimentations au laboratoire et sur le terrain que *Microcystis aeruginosa* ne peut pas croître quand les températures de l'eau sont inférieures à 10 °C tandis que *P. rubescens* peut croître à des températures de 7 °C et même moins (Jacquet *et al.*, 2005 ; Konopka *et al.*, 1981).

Chapitre IV. Assemblage des communautés bactériennes
associées aux cyanobactéries dans deux
plans d'eau de l'Est Algérien

4.1. Introduction

Dans les écosystèmes aquatiques, les communautés bactériennes sont des indicateurs directs des changements de leurs environnements. Ce sont, en effet, les principaux médiateurs des cycles biogéochimiques et des éléments clés dans la minéralisation de la matière organique (Paerl *et al.*, 2002; Tang *et al.*, 2009; Michotey *et al.*, 2012). Ces microorganismes peuvent s'attacher soit temporairement ou d'une façon permanente à de nombreux types de particules suspendues d'une taille allant du sub-micromètre (particules colloïdales, algues, ...etc) à de large agrégats (Brunberg, 1999).

L'augmentation croissante de l'eutrophisation et à un degré moindre les changements climatiques, sont les principaux facteurs à l'origine de l'augmentation de l'occurrence et la sévérité des blooms liés aux cyanobactéries (Paerl & Huisman 2009, Paerl *et al.*, 2011; Grafton *et al.*, 2013 ; Bukowska *et al.*, 2017). Ces blooms de cyanobactéries vont s'accompagner de nombreux changements dans les écosystèmes où ils surviennent. Ils vont par exemple provoquer des variations importantes des concentrations en oxygène (suroxygénation de l'eau le jour, anoxie la nuit qui peut se traduire par la mort des organismes aquatiques tels que les poissons). Par ailleurs, durant ces phénomènes de proliférations des cyanobactéries, de nombreux métabolites secondaires peuvent être libérées notamment lors de la mort des cellules, des métabolites qui peuvent être toxiques pour l'homme ou les animaux (Carmichael *et al.*, 1992; de Figueiredo *et al.*, 2006; Nasri *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012).

La dégradation des écosystèmes aquatiques en raison des blooms de cyanobactéries a poussé la communauté scientifique à avoir un intérêt spécial aux communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dont le rôle n'est pas à négliger (Wu *et al.*, 2007; Parveen *et al.*, 2013; Buchan *et al.*, 2014; Louati *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2016). En particulier, *Microcystis* qui est souvent dominante dans les écosystèmes d'eau douce en été et au début de l'automne forme des colonies mucilagineuses qui constituent une niche écologique potentielle pour les bactéries environnantes. La matrice de polysaccharide pourrait en effet constituer une source importante d'énergie aux bactéries associées à ces cyanobactéries (Worm & Sondergaard, 1998). En échange, les partenaires bactériens pourraient jouer un rôle important dans

l'approvisionnement de la cyanobactérie en CO₂, azote, phosphore, soufre et en éléments traces (Cai *et al.*, 2013). D'une façon plus globale, il existe probablement aussi bien des interactions positives que des interactions négatives (compétition par exemple) entre les bactéries et les cyanobactéries qui leur sont associées (Berg *et al.*, 2009; Fukami *et al.*, 1997; Lovejoy *et al.*, 1998).

Malgré l'augmentation croissante des études concernant la structure et la composition des bactéries attachées aux cyanobactéries lors de la dernière décennie, il apparaît que peu d'études se sont intéressées à l'évolution temporelle des associations entre bactéries et cyanobactéries en période de blooms (Höfle *et al.*, 1999 ; Wu *et al.*, 2007, Li *et al.*, 2012 ; Woodhouse *et al.* 2016) et que ces travaux n'ont jamais été réalisés dans des écosystèmes subtropicaux.

4.2. Méthodologie

4.2.1. Séquençage Illumina MiSeq et traitement des données

L'extraction de l'ADN environnemental et l'amplification de la région hypervariable V3-V4 de l'ADNr 16S (344pb) dans le lac Oubeira ont été réalisées de la même manière que dans le protocole décrit dans le chapitre précédent pour la retenue de Hamman Debagh (voir chapitre 3 : 3.2.2.3).

Tableau 1. Quantification des pools d'extraits d'ADN après réajustement de la concentration à environ 20ng L⁻¹ dans le lac Oubeira.

<i>Date de prélèvement</i>	<i>Concentration d'ADN (ng µL⁻¹)</i>	<i>Ratio 260/280</i>
02.04.2014	21,54	1,9
09.05.2014	6,64	1,65
19.08.2014	22,83	1,78
09.2014	23,1	1,8
02.10.2014	18,3	2
.11.2014	17,89	1,42
29.11.2014	21,41	1,65
17.01.2015	21,35	1,74
13.02.2015	18,98	2,06

Les données de séquençage ont été traitées en utilisant le pipeline d'analyse de la plateforme MR DNA (MR DNA Shallowater, TX, USA). Une première étape de nettoyage des séquences a été effectuée en éliminant (i) les séquences dont la taille est inférieure à 150pb, (ii) celles qui contiennent des bases ambiguës, ou encore (iii) celles qui contiennent des homopolymères supérieurs à 6 pb.

Par la suite, les unités taxonomiques opérationnelles (OTU) ont été définies par un regroupement des séquences ayant 97% d'homologie (3% de divergence). Cette étape est suivie par une élimination des singletons et des chimères. Les OTUs sont ensuite taxonomiquement classifiées en utilisant le programme BLASTn dans les bases de données Green Genes, RDP11 et NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov; DeSantis *et al.*, 2006; <http://rdp.cme.msu.edu>).

Le tableau des OTUs obtenues est aussi nettoyé comme suit :

- i) Seules les OTUs avec 98% de similitude de séquences avec celles retrouvées sur GeneBank® ont été retenues.
- ii) Les singletons ont été éliminés.
- iii) Toutes les OTUs affiliées à la classe des cyanobactéries ont également été considérées séparément des autres bactéries.

Ce traitement a entraîné une réduction du nombre des OTUs de 3481 à 1316 dans le réservoir Hammam Debagh et de 3778 à 1239 dans le lac Oubeira. Pour finir une dernière étape de normalisation des échantillons a été effectuée. Cette étape consiste en un ré-échantillonnage aléatoire du nombre de séquences de manière à le réduire dans chaque échantillon à un nombre égal à celui du plus faible échantillon.

4.2.2. Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 3.3.3). Les diagrammes de Venn construits pour comparer les OTUs uniques et partagés dans les deux plans d'eau ont été réalisés en utilisant le package « VennDiagram ». La richesse des communautés bactériennes, l'indice Chao1, l'indice de diversité Shannon-Weaver et l'analyse de la raréfaction ont été calculés avec le package « Vegan ». Les différences des variations des indices de la richesse et la diversité des communautés des communautés bactériennes entre les deux sites d'étude ont été déterminées par le

test de Kruskal-Wallis. La classification hiérarchique des paramètres physico-chimique en fonction des sites (Oubeira, Hammam Debagh) a été réalisée avec le package « ape ».

Pour finir, des analyses multivariées (MANOVA et CCA) ont été effectuées sur deux catégories de variables : l'ensemble des communautés bactériennes considérées au niveau taxonomique des ordres et les variables physico-chimiques. L'analyse canonique des correspondances (CCA) a été réalisée avec le package « Vegan ».

4.3. Résultats

4.3.1. Comparaison des assemblages des communautés bactériennes dans les deux sites d'étude

4.3.1.1. Richesse et diversité des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries

Le tableau 2 regroupe l'ensemble des indices de richesse et de diversité estimés dans les deux sites d'étude. Globalement, le nombre total des séquences du fragment du gène qui code pour l'ARNr 16S obtenues varie entre 9999 et 115768 séquences dans la retenue Hammam Debagh et entre 13797 et 72079 séquences dans le lac Oubeira.

La richesse des communautés bactériennes dans les deux écosystèmes varie entre 348 et 752 OTUs sans que l'on n'observe de variations saisonnières, ni de différences statistiques entre les communautés bactériennes des deux écosystèmes (Test de Kruskall-Wallis).

Les valeurs de l'indice Chao1 qui traduisent la richesse potentielle des communautés bactériennes, varient quant à elles entre 467 et 873, ce qui montre par comparaison avec les valeurs de richesse, que toutes les OTUs bactériennes n'ont pas été identifiées par notre approche de séquençage (Fig. 1). Ce résultat est d'ailleurs confirmé par les courbes de raréfaction (Fig. 2) qui n'atteignent pas l'asymptote, même si certaines d'entre elles s'en approchent. Cependant, la proximité entre les valeurs de richesse et les valeurs du Chao1 suggère dans le même temps que les OTUs dominantes ont bien été identifiées et que seules des OTUs très rares sont certainement absentes de nos inventaires.

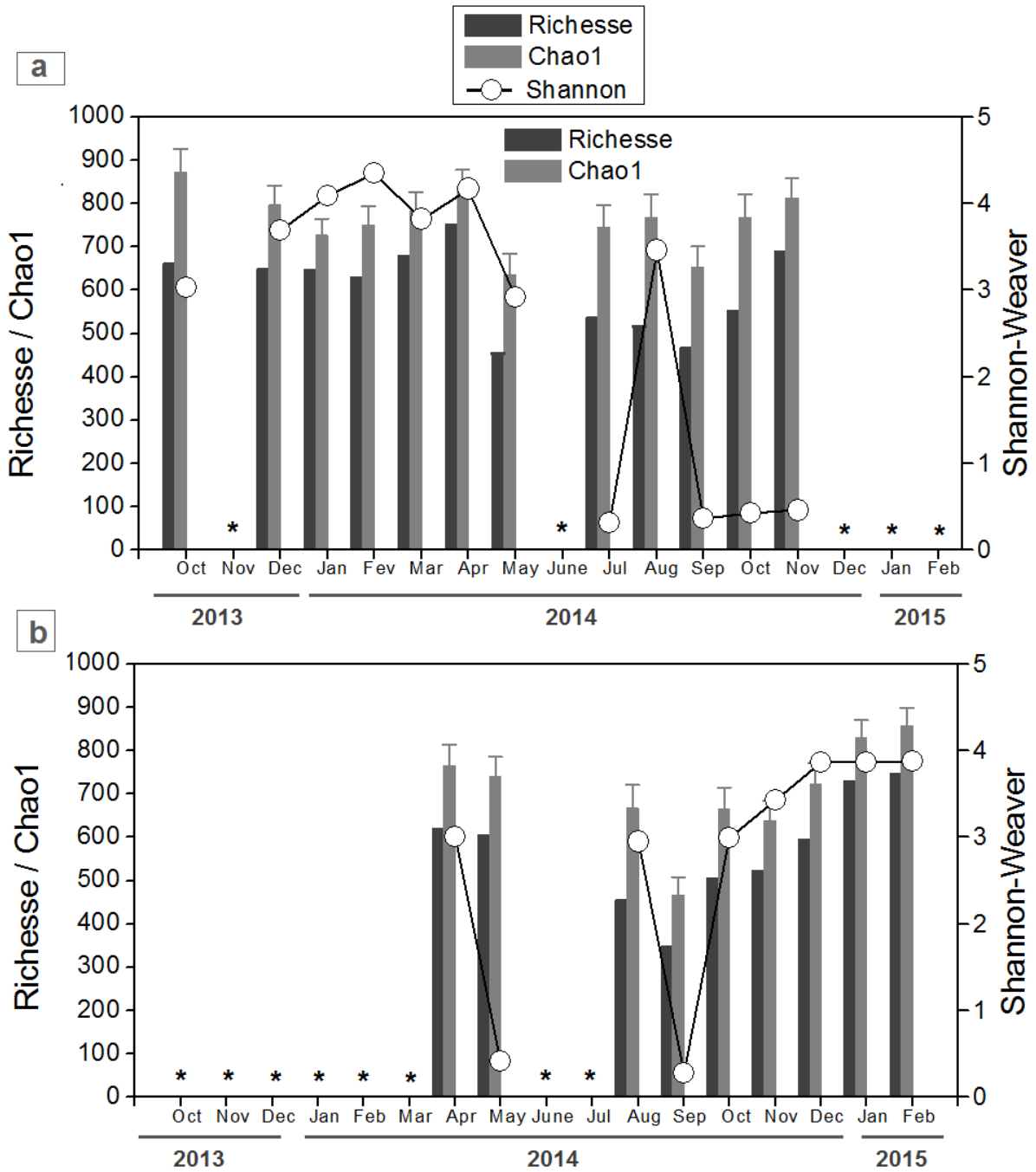


Figure 1. Variation temporelle de la richesse et la diversité des communautés bactériennes dans la retenue de Hammam Debagh (a) et dans le lac Oubeira (b).

Enfin, les valeurs de l'indice de Shannon dans les communautés bactériennes des deux écosystèmes se situent entre 2,8 et 4,6 et sont donc élevées ce qui traduit l'existence de communautés bactériennes très diversifiées. Cependant, des variations assez importantes sont observées dans cet indice ce qui traduit le fait que des dominances passagères de certains groupes bactériens peuvent probablement se produire au sein de ces communautés (Fig. 1).

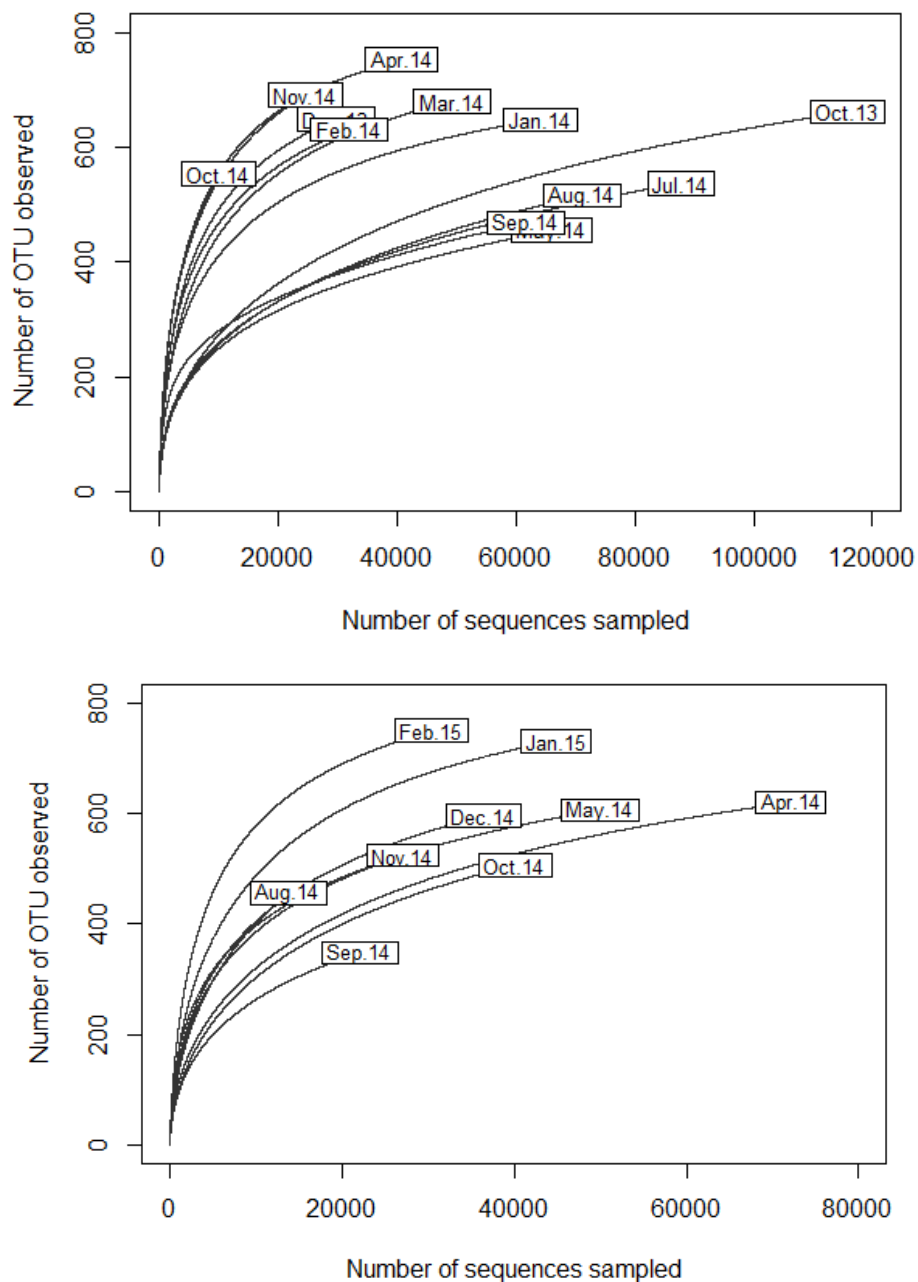


Figure 2. Analyse de raréfaction des OTUs (similitude des séquences $\geq 98\%$) observés dans a) la retenue Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira.

Chapitre IV
*Assemblage des communautés bactériennes
 associées aux cyanobactéries dans deux
 plans d'eau douce de l'Est Algérien*

Tableau 2. Indices écologiques liés à la richesse et la diversité des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh et dans le lac Oubeira

	<i>Hammam Debagh</i>				<i>Oubeira</i>			
	<i>no. reads*</i>	<i>Richesse</i>	<i>Chao1</i>	<i>Shannon</i>	<i>no. reads*</i>	<i>Richesse</i>	<i>Chao1</i>	<i>Shannon</i>
<i>oct.13</i>	115768	662	873 (±53)	3,03 (±0,01)	nd	nd	nd	nd
<i>nov.13</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>dec.13</i>	29701	650	797 (±44)	3,69 (±0,04)	nd	nd	nd	nd
<i>jan.14</i>	64116	648	727 (±38)	4,09 (±0,02)	nd	nd	nd	nd
<i>fev.14</i>	31910	631	751 (±43)	4,35 (±0,03)	nd	nd	nd	nd
<i>mar.14</i>	49301	680	784 (±42)	3,82 (±0,03)	nd	nd	nd	nd
<i>Avr.14</i>	40823	752	841 (±37)	4,17 (±0,03)	72079	620	766 (±48)	3,01 (±0,02)
<i>mai14</i>	65974	455 (±1)	636 (±48)	2,92 (±0,02)	49927	606	741 (±45)	4,2 (±0,02)
<i>juin14</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>juil.14</i>	87757	538	746 (±51)	3,2 (±0,02)	nd	nd	nd	nd
<i>aout.14</i>	71098	516 (±1)	768 (±53)	3,46 (±0,02)	13797	456	668 (±53)	2,95 (±0,05)
<i>sep.14</i>	61617	468	653 (±49)	3,6 (±0,02)	22094	348	467 (±42)	2,8 (±0,03)
<i>oct.14</i>	9999	554	768 (±53)	4,3 (±0,05)	40141	507	666 (±49)	2,99 (±0,03)
<i>nov.14</i>	24671	691	813 (±46)	4,6 (±0,03)	27121	524	639 (±45)	3,43 (±0,04)
<i>dec.14</i>	nd	nd	nd	nd	36505	596	724 (±47)	3,87 (±0,03)
<i>jan.15</i>	nd	nd	nd	nd	44853	731	829 (±42)	3,86 (±0,03)
<i>fev.15</i>	nd	nd	nd	nd	30377	749	857 (±42)	3,88 (±0,04)

(nd) données non-disponible

*Nombre de séquences de la région V3-V4 de l'ADNr 16S

4.3.1.2. Etude de la composition des communautés bactériennes

A l'échelle du phylum, il apparaît en considérant l'ensemble des résultats, que les communautés bactériennes des deux écosystèmes sont largement dominées par les Proteobacteria qui regroupent 63% des séquences dans la retenue Hammam Debagh et 66% dans le lac Oubeira (Fig. 3 a & b). Les autres phyla les plus représentés sont les Firmicutes (15%), Bacteroidetes (9%), Actinobacteria (6%), Deinococcus-thermus (Deinococci) (4%) et Fusobacteria (2%) dans la retenue Hammam Debagh. Dans le lac Oubeira, les autres phyla représentés sont les Fusobacteria (10%), Firmicutes et Verrucomicrobia (8%), Bacteroidetes (6%) et Actinobacteria (2%). Le reste des phyla constituait une fraction $\leq 1\%$ de la totalité des phyla recensés dans les deux plans d'eau. La présence importante de Fusobacteria est intéressante à noter car ces bactéries ne sont pas souvent signalées en abondance dans les écosystèmes d'eau douce et parce que leur métabolisme est strictement anaérobie.

Il est également intéressant de noter que la composition du phylum Proteobacteria varie dans les deux plans d'eau (Fig. 3 c & d). En effet, à l'échelle des classes, ce phylum est représenté principalement par la classe des Gammaproterobacteria (46%) dans le réservoir Hammam Debagh alors que dans le lac Oubeira deux classes, les Alphaproteobacteria (48%) et les Gammaproteobacteria (39%), sont majoritairement observées.

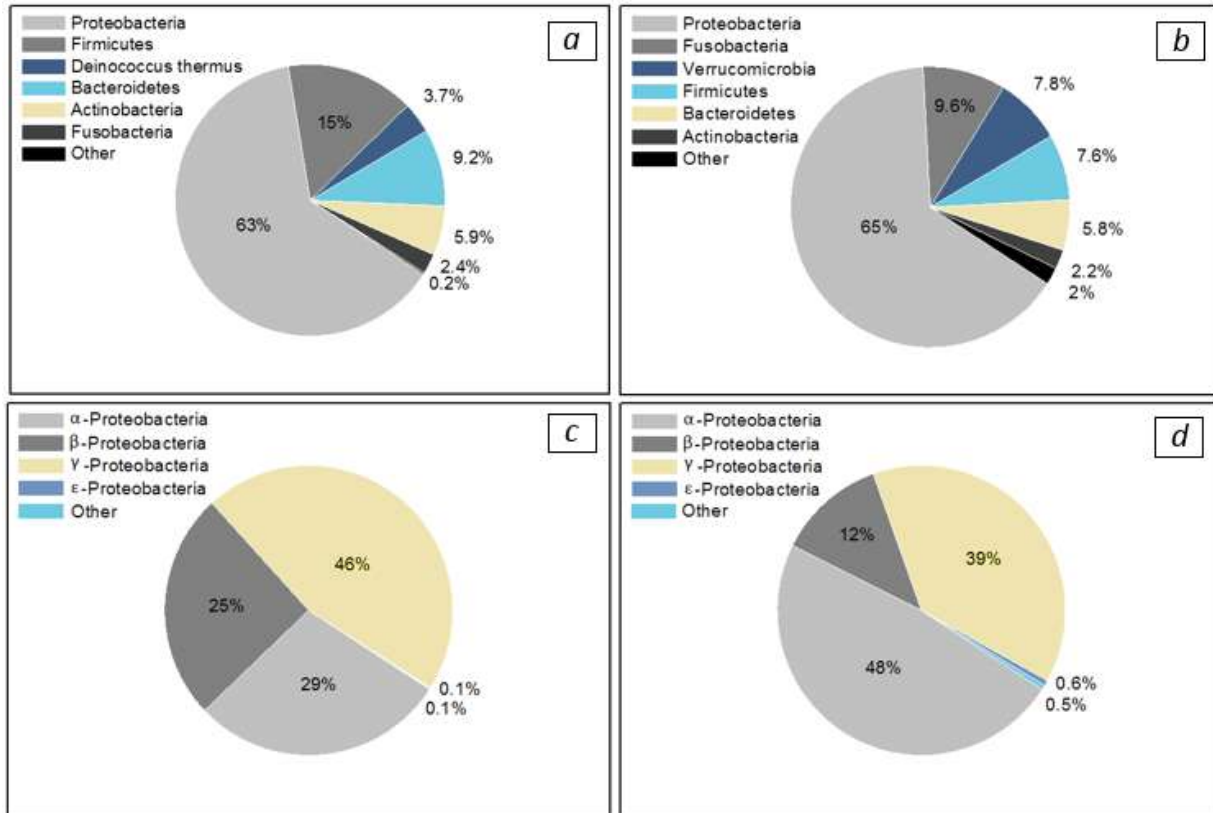


Figure 3. Composition des communautés bactériennes représentées à l'échelle du phylum dans le réservoir Hammam Debagh (a) et dans le lac Oubeira (b) et à l'échelle des classes pour le phylum des Proteobacteria dans la retenue Hammam Debagh (c) dans le lac Oubeira (d).

A l'échelle des suivis temporels réalisés, les figures 4 a & b révèlent l'existence de variations dans les proportions des différents phyla dominants les communautés bactériennes des deux plans d'eau, même si les Proteobacteria restent toujours dominants au sein de ces communautés.

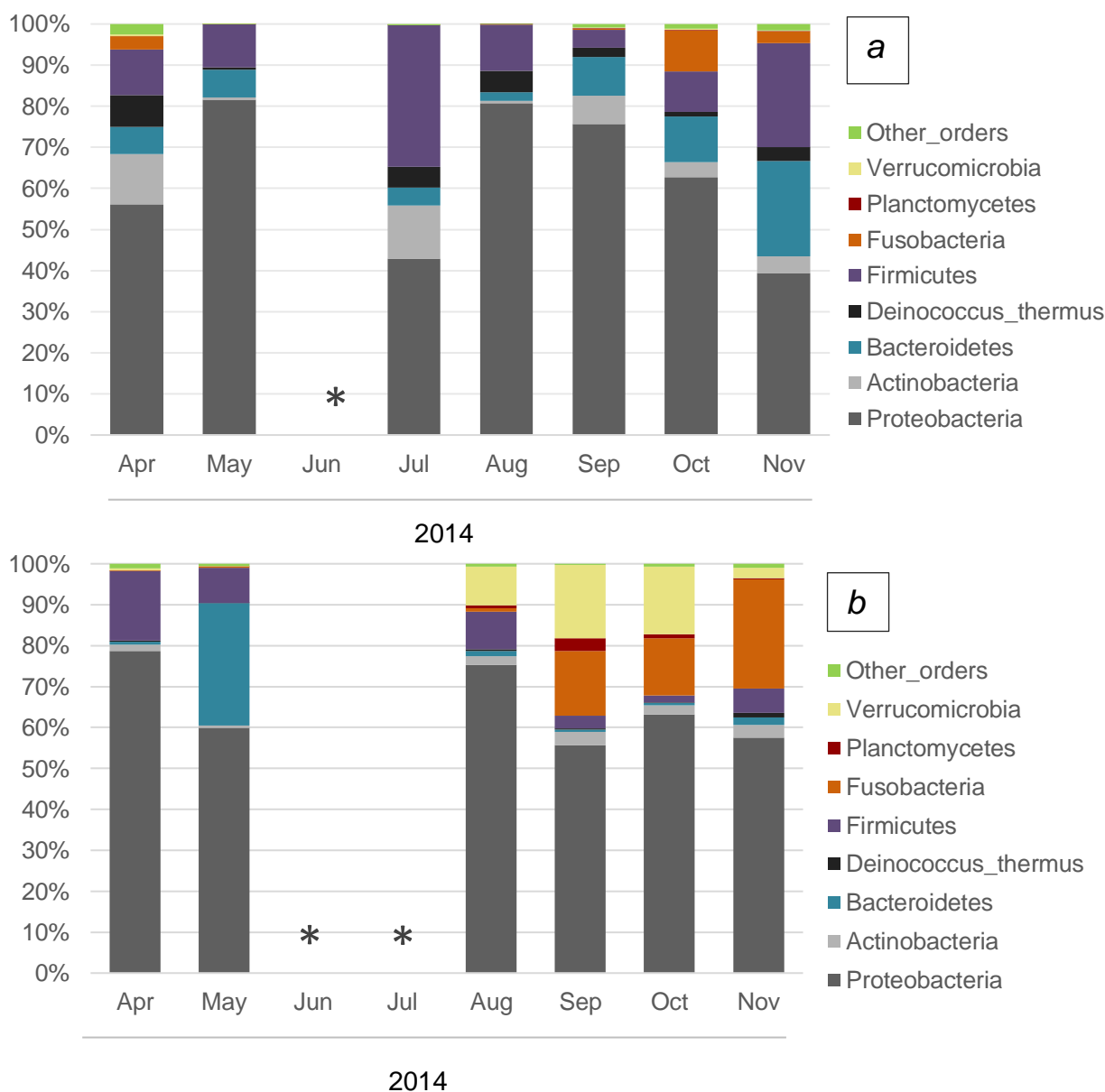


Figure 4. Variation temporelle des proportions des communautés bactériennes à l'échelle du phylum dans a) le réservoir Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira.

4.3.1.3. Variations temporelles dans les abondances relatives des différents ordres bactériens présents dans les deux écosystèmes

Les variations temporelles dans la structure des communautés bactériennes estimées au niveau de l'ordre sont illustrées dans la Figure 5. Cette figure montre que des variations importantes surviennent dans les communautés de bactéries des deux écosystèmes au cours de la période de suivi.

En particulier, dans la retenue de Hammam Debagh, on observe que si quelques ordres tels que les Pseudomonadales, les Bacilliales et les Flavobacteriales sont présents en abondances similaires au cours du suivi, d'autres ordres montrent des variations très importantes à l'exemple des Burkholderiales, des Aeromonadales, des Caulobacterales et des Xantomonadales. Il est intéressant de remarquer que lorsque les cyanobactéries étaient très abondantes en Octobre et Novembre et dans une moindre mesure en Avril, les communautés sont très diversifiées, sans dominance nette d'un ordre comme cela est observé lorsque ces cyanobactéries sont peu abondantes.

Dans le lac Oubeira, les variations mensuelles sont moins importantes et deux périodes peuvent être distinguées, la première regroupant les mois d'avril et de mai et la seconde les mois d'août à septembre. Au cours de cette seconde période qui correspond à la période de prolifération des cyanobactéries dans le lac, les communautés bactériennes sont extrêmement stables dans leur composition des Caulobacterales, des Fusobacterales et dans une moindre mesure des Rhizobiales et des Verrucomicrobiales.

Assemblage des communautés bactériennes associées aux cyanobactéries dans deux plans d'eau douce de l'Est Algérien

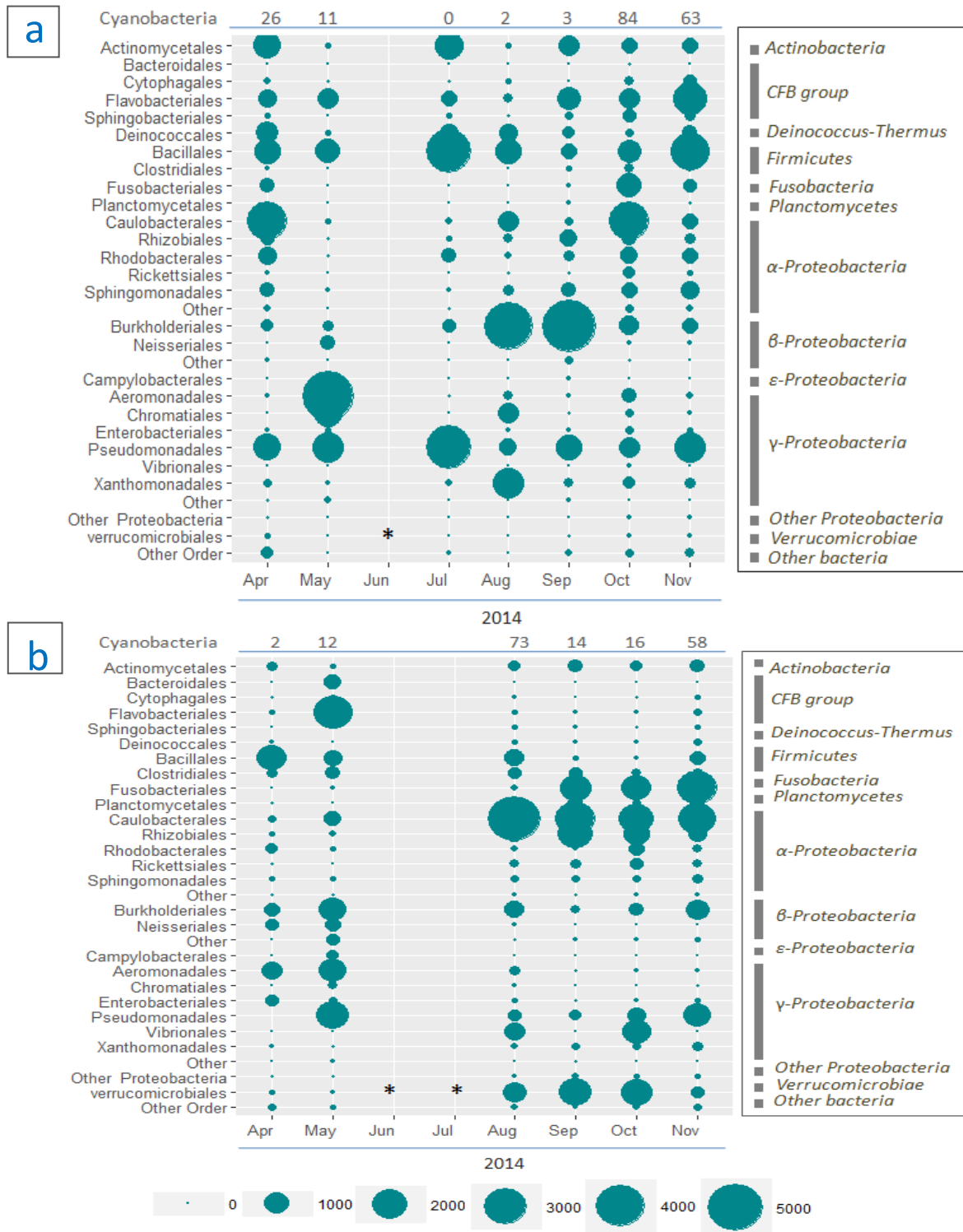


Figure 5. Variation temporelle dans la structure des communautés bactériennes considérée à l'échelle des ordres dans a) le réservoir Hammam Debagh et dans b) le lac Oubeira après normalisation des échantillons (sans les séquences des cyanobactéries) par rapport à l'échantillon au nombre plus petit des séquences (n=9999 reads). La surface de chaque cercle est proportionnelle à l'abondance relative de l'ordre considéré. Les proportions des cyanobactéries sont indiquées en haut de chaque graphique. Ces proportions sont calculées après normalisation de tous les jeux de données (toutes les bactéries y compris les cyanobactéries) par rapport à l'échantillon contenant le plus petit nombre de séquences (n=25724 reads).

4.3.2. Influence des facteurs environnementaux sur la structure des communautés bactériennes

Dans cette partie les facteurs environnementaux sont exprimés par la moyenne des mesures réalisées dans les cinq stations du Lac Oubeira (DG, BM, C, ME, DR) et les quatre stations choisies dans la retenue de Hammam Debagh (St1, St2, St3, St4), à l'exception des paramètres météorologiques (pluviométrie, température de l'air).

4.3.2.1. Chlorophylle-a et transparence de l'eau

L'observation des variations mensuelles moyennes des concentrations en chlorophylle-a montre parfaitement le caractère hypereutrophe du lac Oubeira avec une moyenne de concentrations pendant toute la période d'étude de 116 mg L⁻¹ dans le lac Oubeira, avec un minimum de 65 mg L⁻¹ (Fig. 6). Dans la retenue Hammam Debagh, la moyenne des concentrations en chlorophylle-a pendant toute la période d'étude n'est que de 8,5 mg L⁻¹ ce qui montre son caractère mésotrophe (Fig. 6). Les concentrations maximales observées étaient de 218 mg L⁻¹ et 24 mg L⁻¹ respectivement dans la station Bou-Merchen en août pour le lac Oubeira et dans la station St3 en avril pour la retenue de Hammam Debagh.

Comme attendu, la transparence de l'eau est généralement très basse dans le lac Oubeira avec une moyenne mensuelle de 15,5 cm alors que la moyenne mensuelle dans la retenue Hammam Debagh est de 127 cm. Les valeurs les plus élevées de la transparence de l'eau sont de 30 cm dans le lac Oubeira.

4.3.2.2. Sources d'azote et de phosphore : NO₃, NO₂, PO₄

Comme attendu d'après les résultats de chlorophylle-a, les concentrations en nutriments sont plus élevées dans le lac Oubeira que dans le réservoir Hammam Debagh (Fig. 7).

En ce qui concerne l'azote, la forme dominante est celle des nitrates dont les valeurs moyennes s'établissent entre 0,6 et 7,2 mg L⁻¹ dans le lac Oubeira et entre 1,7 et 3,5 mg L⁻¹ dans la retenue de Hammam Debagh.

Les valeurs de NO₂ n'excèdent jamais 0,5 mg L⁻¹ dans les deux écosystèmes durant toute la période d'étude.

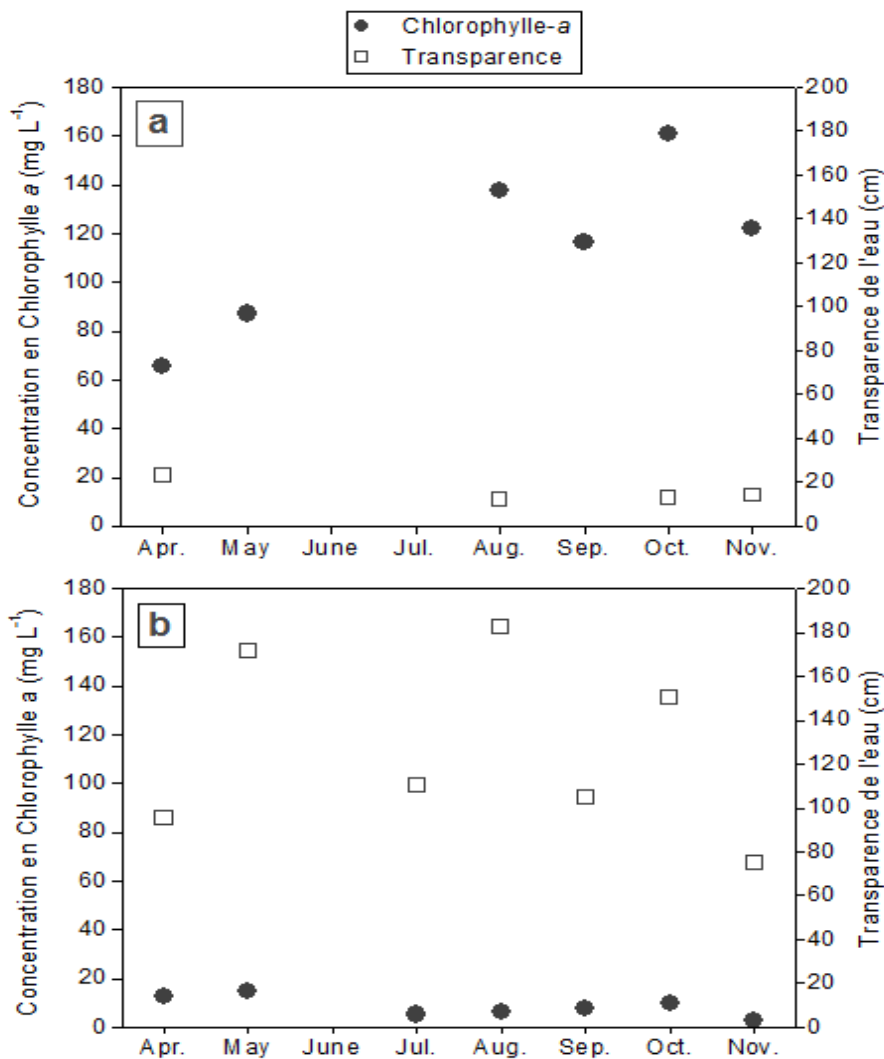


Figure 6. Variation temporelle de la concentration en chlorophylle-a et la transparence de l'eau dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les concentrations en chlorophylle-a et la transparence de l'eau correspondent à la moyenne des mesures réalisées dans les cinq stations du lac Oubeira et dans les quatre stations de la retenue Hammam Debagh.

En ce qui concerne les orthophosphates, la moyenne mensuelle des stations n'excède pas $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ dans la retenue Hammam Debagh alors que dans le lac Oubeira, c'est en avril et en novembre que les moyennes les plus élevées sont enregistrées ($0,35 \text{ mg L}^{-1}$; $0,29 \text{ mg L}^{-1}$ respectivement).

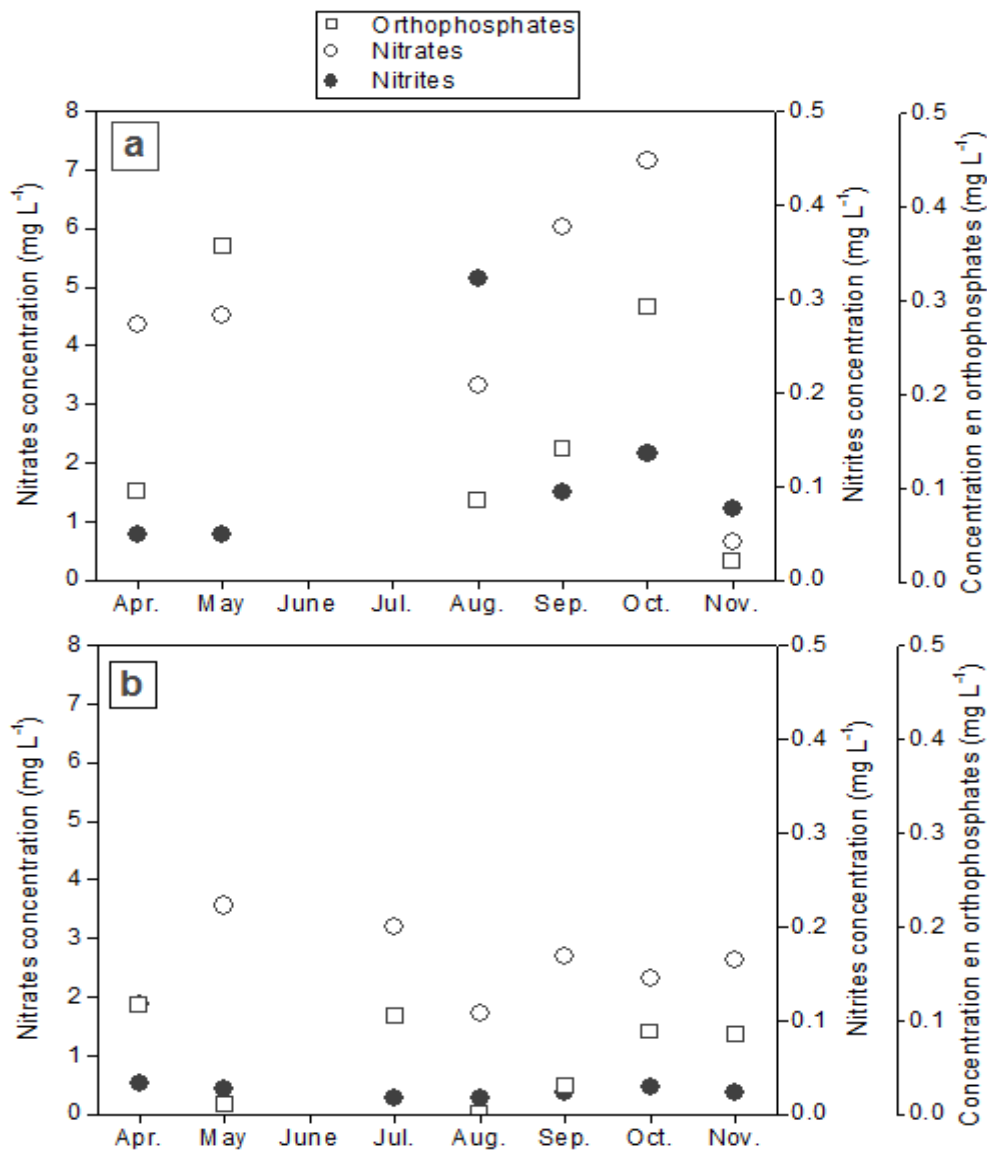


Figure 7. Variation temporelle des concentrations en NO_3 , NO_2 , PO_4 dans le lac Oubeira (a) et dans la retenue de Hammam Debagh (b). Les concentrations en nutriment correspondent à la moyenne des mesures réalisées dans les cinq stations du lac Oubeira et dans les quatre stations de la retenue Hammam Debagh.

4.3.2.3. Température de l'eau et de l'air et pluviométrie

Les mesures de la pluviométrie confirment le caractère plus humide de la région d'El-Kala comparé à la région de Hammam Debagh. En effet, les précipitations cumulées sur la période d'étude sont de 100 mm dans cette dernière région alors que dans le Lac Oubeira, elles sont de 387 mm.

Les températures de l'eau et de l'air quant à elles, suivent la même dynamique dans les deux sites d'étude avec des pics de 28°C et 26°C en été dans la retenue Hammam Debagh et le lac Oubeira respectivement (Fig. 8).

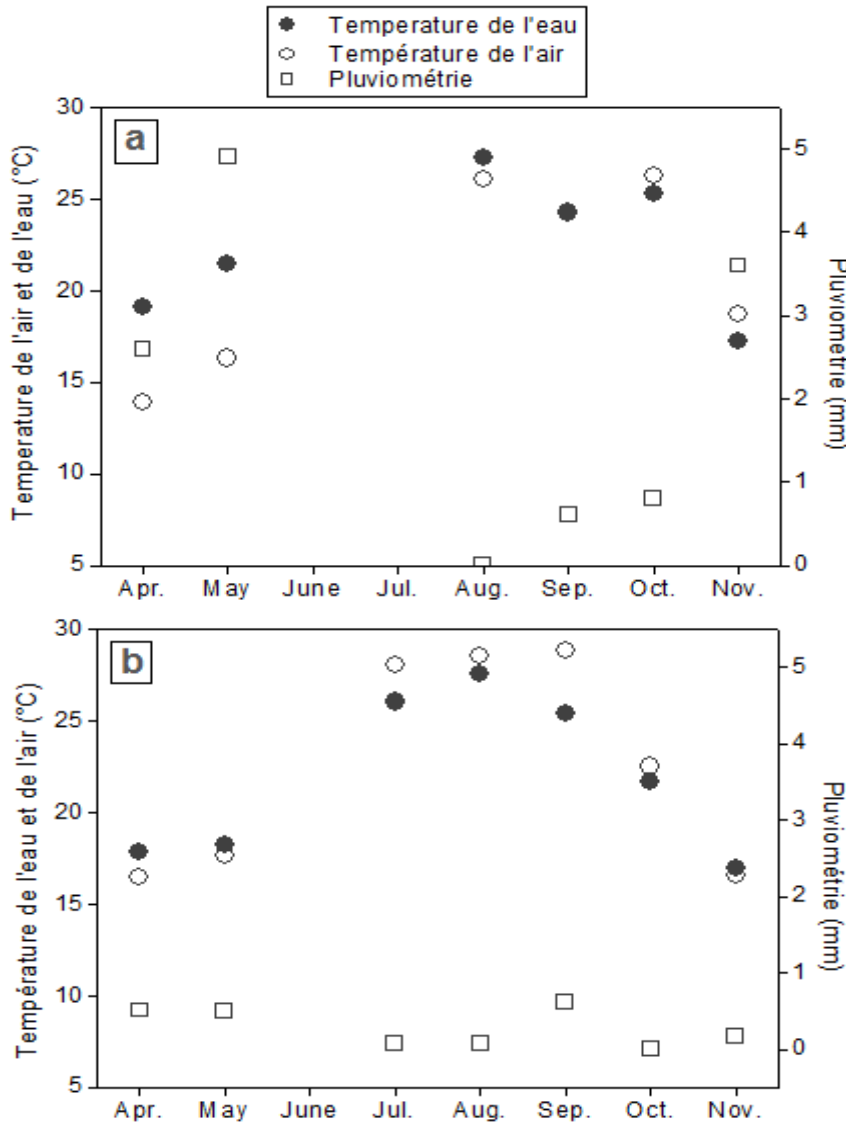


Figure 8. Variation temporelle de la pluviométrie, température de l'air et la température de l'eau dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les valeurs de la pluviométrie, température de l'air et de l'eau correspondent à la moyenne des mesures réalisées dans les cinq stations du lac Oubeira et dans les quatre stations de la retenue Hammam Debagh. Dans chaque station de prélèvement la pluviométrie est cumulée à partie des 15 jours avant la date de prélèvement.

4.3.2.4. Oxygène dissous, pH et conductivité

Les teneurs moyennes mensuelles de l'oxygène dissous varient de 7,2 à 12,82 mg L⁻¹ dans le lac Oubeira et sont comprises entre 7,4 et 10,7 mg L⁻¹ dans la retenue Hammam Debagh. Les deux plans d'eau montrent des teneurs élevées en oxygène dissous en avril. Toutefois dans le lac Oubeira, si on tient compte des valeurs relevées dans chaque station, nous notons des teneurs en oxygène dissous de l'ordre de 4,54 et 6,2 mg L⁻¹ respectivement dans la station Bou-Merchen (en octobre) et dans la station Demnet Erihane (en août).

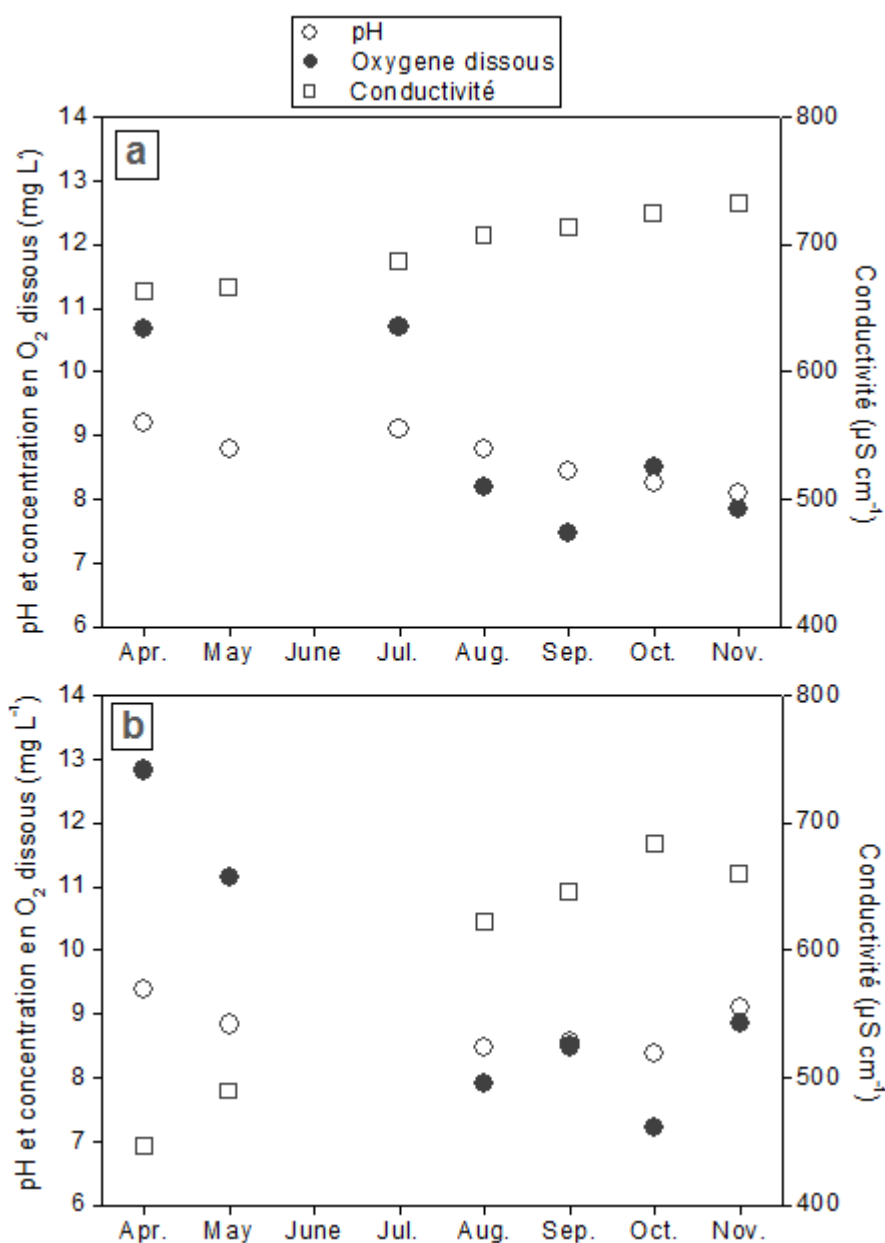


Figure 9. Variation temporelle de la conductivité électrique de l'eau, concentration en oxygène dissous et le pH dans le lac Oubeira (a) et dans le réservoir Hammam Debagh (b). Les valeurs de conductivité, oxygène dissous et pH correspondent à la moyenne des mesures réalisées dans les cinq stations du lac Oubeira et dans les quatre stations de la retenue Hammam Debagh.

La conductivité est relativement stable dans la retenue Hammam Debagh ($662-731\mu\text{S cm}^{-1}$) alors que dans le lac Oubeira des variations plus importantes entre $445\mu\text{S cm}^{-1}$ et $683\mu\text{S cm}^{-1}$ sont observées. Les valeurs de pH varient entre 8,4-9,4 dans le lac Oubeira et entre 8,1-9,2 dans la retenue Hammam Debagh (Fig. 9).

4.3.2.5. Modèles d'influence des paramètres physico-chimiques sur la structure des communautés bactériennes dans les deux écosystèmes

L'analyse de la variance multivariée (MANOVA) qui est une généralisation de la variance mais s'applique sur deux groupes ou plus de variables a été réalisé dans le but de comparer les variations des paramètres physico-chimiques dans les deux sites d'études.

L'application des deux tests Wilks et Pillai montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les deux sites d'étude. Par ailleurs, la classification hiérarchique des différentes stations de prélèvements montre une homogénéité des stations de la retenue Hammam Debagh alors que dans le lac Oubeira, deux groupes d'échantillons distincts sont observés (Fig. 10).

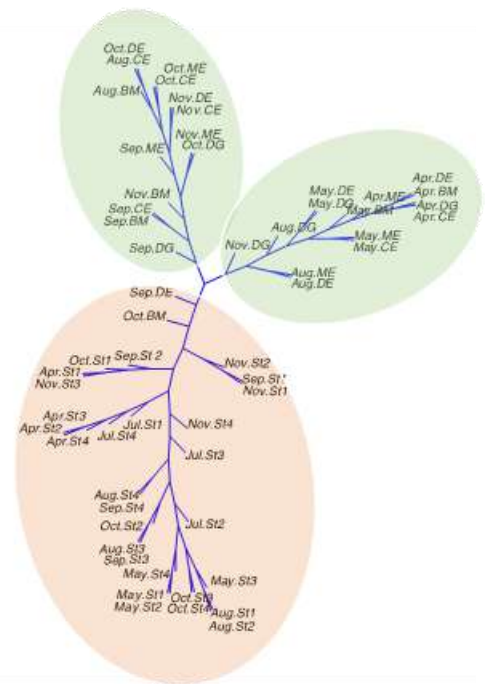


Figure 10. Arbre de classification des paramètres physico-chimiques par site. Abréviations. BM : Bou-Merchen, DG : Day L'Graa, ME : Messida, DR : Demnet Erihane, CE : centre.

4.3.2.6. Analyse canonique des correspondances (CCA) réalisées sur les variables physico-chimiques et climatiques et sur la composition des communautés bactériennes considérée à l'échelle taxonomique des ordres

Nous avons réalisé une première CCA sur les données obtenues sur le lac Oubeira (Fig. 11). Cette analyse sur la structure des communautés microbiennes considérées à l'échelle des ordres montre que sur son premier axe qui représente près de 55 % de l'inertie totale, il y a une opposition très nette à toutes les stations d'échantillonnage entre les résultats obtenus d'août en novembre et ceux obtenus en avril et mai. Par ailleurs, le second axe de l'analyse dont la valeur d'inertie est proche de 25%, permet de distinguer les échantillons récoltés en avril de ceux récoltés en mai, là-encore quelles que soient les stations échantillonnées. Les regroupements par dates des stations d'échantillonnage montrent que les communautés bactériennes réagissent de la même manière à l'échelle de l'ensemble de l'écosystème.

Il apparaît également dans cette analyse que les variables chlorophylle-a et températures de l'air et de l'eau sont associées aux communautés bactériennes d'août à novembre car cette période correspond à celle des proliférations des cyanobactéries (août-septembre). Ce résultat n'est pas une surprise car il est bien connu que ces proliférations génèrent de fortes biomasses, donc des valeurs de chlorophylle élevées, et qu'elles se produisent dans des eaux chaudes. Il est en revanche plus surprenant de constater que pendant les quatre mois de blooms de cyanobactéries, les communautés bactériennes restent très similaires ce qui semble suggérer une influence très forte des proliférations de cyanobactéries sur les autres communautés bactériennes.

Enfin, il est intéressant également de noter que les communautés bactériennes des mois d'avril et mai sont fortement associées aux précipitations. En particulier des bactéries appartenant à deux ordres, Neisseriales et Aeromonadales, sont présentes lors de ces mois avant de disparaître progressivement à partir du mois d'août. La présence de ces ordres pourrait traduire des apports de bactéries depuis le bassin versant car ces ordres sont en général très minoritaires dans les écosystèmes d'eau douce.

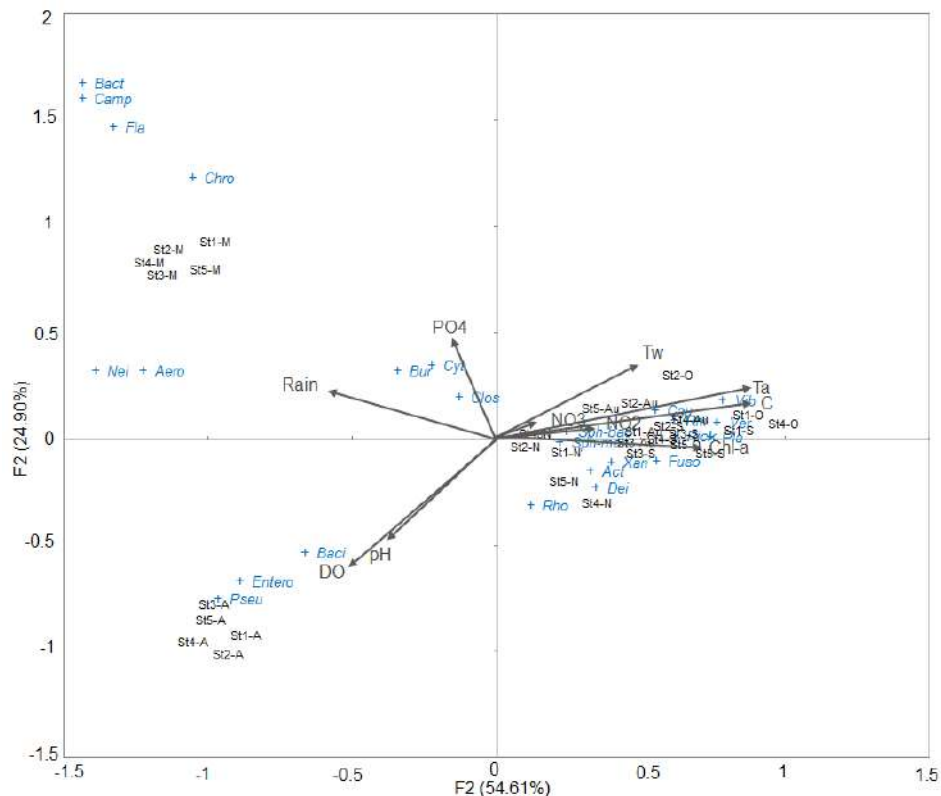


Figure 11. Analyse canonique des correspondances (ACC). Triplot des échantillons des communautés bactériennes, variables physico-chimiques et dates dans le lac Oubeira. Abréviations: Act: Actinomycetales, Aero: Aeromonadales, Baci: Bacillales, Bact: Bacteroidales, Bur: Burkholderiales, Camp: Campylobacterales, Cau: Caulobacterales, Chro: Chromatiales, Clos: Clostridiales, Cyt: Cytophagales, Dei: Deinococcales, Entero: Enterobacterales, Fla: Flavobacterales, Fuso: Fusobacterales, Nei: Neisseriales, Pla: Planctomycetales, Pseu: Pseudomonadales, Rhi: Rhizobiales, Rho: Rhodobacterales, Rick: Rickettsiales, Sph-bac: Sphingobacterales, Sph-mon: Sphingomonadales, Ver: Verrucomicrobiales, Vib: Vibrionales, Xan: Xanthomonadales.

Une seconde analyse a été ensuite réalisée sur les communautés bactériennes de la retenue de Hammam Debagh et sur les variables physico-chimiques mesurées. Contrairement aux résultats obtenus sur Oubeira, il apparaît que les communautés bactériennes de la retenue de Hammam Debagh sont moins clairement différenciées et présentent des « patterns » plus complexes comme le montrent les valeurs d'inertie à peu près équivalentes des deux premiers axes (34 et 32 %) (Fig. 12).

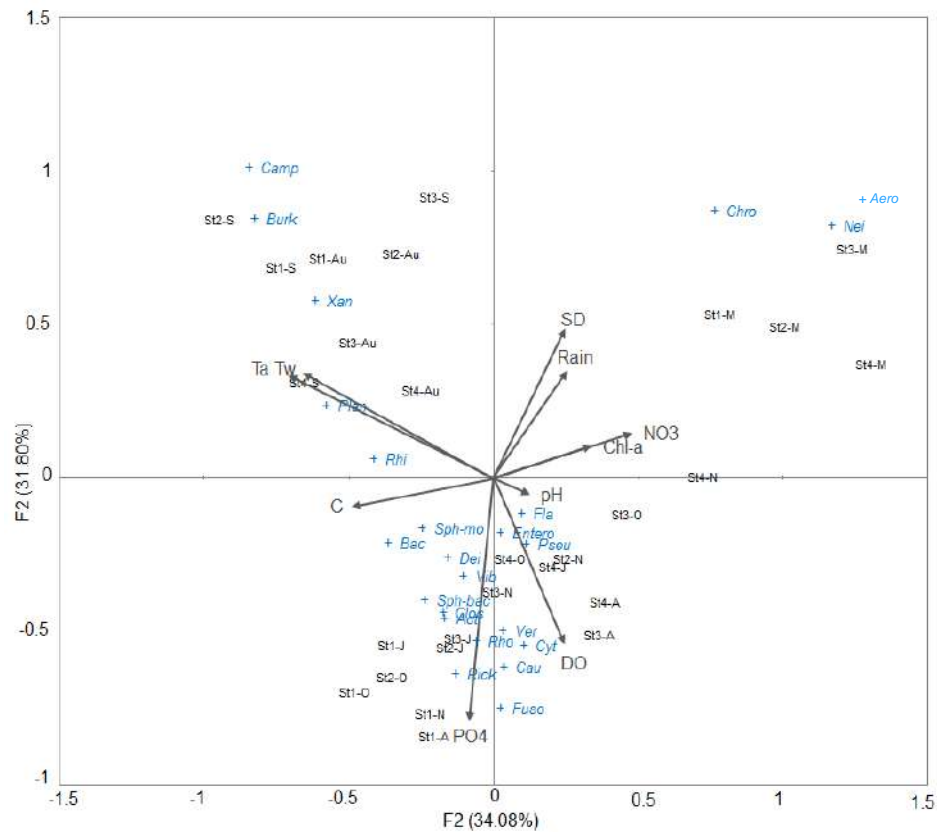


Figure 12. Analyse canonique des correspondances (ACC). Triplot des échantillons des communautés bactériennes, variables physico-chimiques et dates dans le réservoir de Hammam Debagh. Abréviations: Act: Actinomycetales, Aero: Aeromonadales, Baci: Bacillales, Bact: Bacteroidales, Bur: Burkholderiales, Camp: Campylobacterales, Cau: Caulobacterales, Chro: Chromatiales, Clos: Clostridiales, Cyt: Cytophagales, Dei: Deinococcales, Entero: Enterobacterales, Fla: Flavobacterales, Fuso: Fusobacterales, Nei: Neisseriales, Pla: Planctomycetales, Pseu: Pseudomonadales, Rhi: Rhizobiales, Rho: Rhodobacterales, Rick: Rickettsiales, Sph-bac: Sphingobacterales, Sph-mon: Sphingomonadales, Ver: Verrucomicrobiales, Vib: Vibrionales, Xan: Xanthomonadales.

Cette figure révèle l'existence de trois groupes principaux de données. Le premier groupe qui contient les communautés bactériennes du mois de mai aux quatre stations d'échantillonnage est situé du côté positif de l'axe 1, en opposition sur ce même axe avec les communautés des mois d'août et septembre. Le deuxième axe différencie quant à lui ces communautés des mois de mai, août et septembre situées du côté positif de l'axe 2 de celles des mois d'avril, juillet, octobre et novembre qui sont situées du côté négatif de l'axe.

Il est intéressant de noter que les communautés bactériennes du mois de mai se différencient des autres notamment par la présence des Aeromonadales et des Neisseriales et qu'elles sont associées avec la variable pluie. Comme dans le lac Oubeira, il apparaît donc que ces deux groupes bactériens sont associées aux pluies ce qui semble confirmer leur possible transfert depuis le bassin versant.

Par ailleurs, le second groupe identifié qui comprend les communautés bactériennes des mois d'août et septembre, est dominé par des bactéries appartenant aux ordres des Burkholderiales qui sont peu représentées aux autres dates d'échantillonnage. Les variables températures de l'eau et de l'air sont associées à ce groupe, ce qui pouvait être attendue pour ces deux mois qui sont les plus chauds. Il faut noter que ce groupe des Burkholderiales était présent en très faibles abondances aux mêmes dates dans le lac Oubeira ce qui semble exclure un effet direct de la température sur l'abondance de ce groupe dans la retenue de Hammam Debagh.

Enfin, le troisième groupe identifié dans la CCA contient des communautés très diversifiées et il ne semble pas être relié aux variables que nous avons étudiées, à l'exception des orthophosphates dont les concentrations sont un peu plus élevées lors de ces quatre mois.

Pour conclure cette analyse, il est intéressant de noter les différences très marquées dans les évolutions saisonnières des communautés bactériennes des deux écosystèmes étudiés. En effet, si ces communautés subissent des variations importantes dans leur structure qu'il est difficile de relier aux variables environnementales pour la retenue de Hammam Debagh, il apparaît en revanche que dans le lac Oubeira les contraintes environnementales semblent structurer

profondément la communauté bactérienne en été et en automne qui présente alors une grande stabilité.

4.4. Discussion

Ces travaux sont à notre connaissance les premiers réalisés sur les communautés bactériennes de lacs en Afrique du Nord. Leur intérêt était de comparer deux lacs connaissant des statuts trophiques différents, le lac Oubeira étant eutrophe à hypereutrophe alors que la retenue de Hammam Debagh est mésotrophe. La production primaire est donc très différente dans ces deux écosystèmes et en conséquence les quantités de matière organique disponibles pour les bactéries hétérotrophes sont très différentes comme en atteste les valeurs de chlorophylle-a qui nous renseignent sur la biomasse organique disponible.

Dans ces conditions, il est intéressant de constater que les communautés bactériennes des deux écosystèmes possèdent une composition et une structure très similaire si l'on considère le niveau taxonomique de l'embranchement, avec une dominance très marquée des Proteobacteria et, dans une bien moindre mesure, par la présence d'espèces appartenant aux embranchements des Bacteroidetes, Firmicutes et Actinobacteria. La dominance des protéobactéries est partagée par l'ensemble des communautés bactériennes des écosystèmes d'eau douce comme de nombreux travaux l'ont déjà montré sous d'autres latitudes (Parveen *et al.*, 2013; Louati *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2012). Cette dominance générale des protéobactéries dans les écosystèmes d'eau douce traduit le fait que ces bactéries jouent probablement un rôle très important dans le fonctionnement de ces écosystèmes.

Le point le plus original à ce niveau taxonomique de l'embranchement, est la présence importante de Fusobacteria (10% des séquences) dans le lac Oubeira lors des quatre derniers mois de l'année 2014, au moment du bloom de cyanobactéries. En effet, ces bactéries ne sont généralement jamais retrouvées en de telles abondances dans les écosystèmes limniques. Ces bactéries anaérobies sont en effet habituellement signalées dans le tube digestif des poissons d'eau douce, notamment en Afrique (e.g. Tsuchiya *et al.*, 2008 ; Baldo *et al.*, 2015). Leur présence en été et en automne dans le lac d'Oubeira suggère ainsi la température élevée de l'eau à cette période combinée

à l'importante quantité de matière organique générée par la prolifération de *Microcystis* dans ce lac et probablement à l'anoxie qui résulte de la dégradation de cette matière organique, constituent des conditions favorables à la survie et au développement de ces bactéries dans ce lac.

A un niveau taxonomique plus fin, celui des ordres, il apparaît que même si les deux lacs partagent de nombreux ordres communs, la structure de leurs communautés bactériennes qui tient compte de l'abondance relative de ces ordres, présente des différences importantes. Ainsi les Burkholderiales (beta-proteobacteria) sont par exemple largement dominantes à certaines dates dans la retenue de Hammam Debagh alors qu'elles restent toujours très minoritaires dans le lac Oubeira. A l'inverse les Verrucomicrobiales sont abondantes dans ce lac en automne alors que leurs abondances sont toujours très faibles dans la retenue de Hammam Debagh. Tous ces résultats montrent que les conditions environnementales spécifiques à chaque écosystème exercent une influence très forte sur les communautés bactériennes qui aboutit à la sélection d'assemblages bactériens différents dans ces deux lacs.

Nos résultats ont par ailleurs révélé que l'évolution temporelle de la structure des communautés bactériennes dans deux lacs était très différente. En effet, dans la retenue de Hammam Debagh, la structure des communautés bactériennes change profondément d'une date à l'autre, si l'on excepte les deux mois d'août et septembre où elle reste stable. Au contraire dans le lac Oubeira, la structure des communautés bactériennes reste pratiquement la même pendant quatre mois (août-novembre) alors qu'elle était plus variable aux deux autres mois échantillonnés (avril et mai). Différentes variables environnementales peuvent potentiellement expliquer ces différences dans l'évolution des communautés bactériennes au sein de ces écosystèmes.

Nos résultats ont par exemple montré qu'en périodes de pluie, les communautés bactériennes des deux lacs évoluaient avec l'apparition de bactéries sans doute issue du ruissellement des eaux de pluie et d'apports terrigènes. Ces bactéries à l'exemple des Neisseriales, ne se maintiennent pas ensuite dans les lacs.

Cependant le résultat majeur de nos travaux a été de montrer l'existence d'une forte stabilité dans la structure de la communauté bactérienne du lac Oubeira en fin d'été-automne 2014 qui peut être associée aux très fortes biomasses chlorophylliennes mesurées pendant toute cette période. En particulier, le groupe des Caulobacterales

(alpha-proteobacteria) et celui des Fusobacteria dont nous avons parlé ci-dessus, dominant cette communauté. Concernant les Caulobactérales, cette observation est à rapprocher d'un travail récent de Cai et al. (2017) dans lequel une bactérie de ce groupe a été isolée dans les agrégats formés par les colonies de *Microcystis*. Ainsi, les conditions physico-chimiques du lac Oubeira en période de blooms de cyanobactéries (variations élevées des concentrations en oxygène, élévation du pH, production de quantité très importantes de matière organique...etc) exercent des contraintes très fortes sur les communautés bactériennes qui conduisent à la sélection d'une communauté bactérienne particulièrement adaptée à se développer dans cet environnement. A l'appui de cette hypothèse, il est intéressant de noter que dans la retenue de Hammam Debagh, les mois pendant lesquels des bactéries des ordres des Caulobacterales et des Fusobacterales sont retrouvées en plus grande abondance sont ceux où les cyanobactéries étaient les plus abondantes. Enfin, ces résultats suggèrent qu'il existe probablement des interactions positives entre ces deux groupes bactériens et les cyanobactéries qu'il serait intéressant de découvrir pour mieux comprendre la dynamique des blooms de cyanobactéries.

Dans la retenue de Hammam Debagh qui ne connaît pas un tel niveau de production phytoplanctonique (biomasses chlorophylliennes toujours beaucoup plus faibles), même si une augmentation de l'abondance des cyanobactéries peut être observée certains mois, les communautés bactériennes sont beaucoup moins stables dans le temps ce qui signifie très probablement que de très nombreux facteurs et processus sont impliqués dans les variations de structure de ces communautés.

Ainsi, l'ensemble de ces résultats montrent que des processus variés ont un impact sur les communautés bactériennes des deux écosystèmes étudiés mais aussi que certaines conditions environnementales, à l'exemple des blooms de cyanobactéries, peuvent fortement contraindre ces communautés bactériennes. Par ailleurs, la présence dominante et inhabituelle de certains groupes bactériens suggère que les conditions climatiques très différentes de notre zone d'étude par rapport aux nombreux travaux de la bibliographie qui concernent très majoritairement les écosystèmes limniques des latitudes tempérées à froides, conduisent sans doute à l'émergence d'assemblages bactériens différents qu'il sera intéressant de mieux documenter.

Chapitre V. Discussion générale

Ce travail de thèse s'articule sur deux principaux volets dont les objectifs étaient de :

- i) mieux comprendre l'écologie de *Planktothrix rubescens* dans la retenue Hammam Debagh et d'identifier les principaux facteurs et processus qui contrôlent sa cohabitation et compétition avec *Microcystis sp.* dans notre zone subtropicale.
- ii) comparer l'évolution temporelle de la phycosphère de cyanobactéries par une approche de métagénétique dans deux plans d'eaux de l'Est algérien, qui diffèrent par leurs configurations et leurs niveaux trophiques et d'identifier les variables environnementales qui contrôlent leurs dynamiques.

Les approches utilisées dans le contexte de cette étude nous ont permis d'apporter des éléments de réponse aux questionnements posés mais aussi de soulever d'autres questions d'ordre plus général que nous allons développer ci-dessous.

5.1. Eléments de réponses relatives à la problématique des proliférations des cyanobactéries dans la retenue de Hammam Debagh

5.1.1. Impact global et local du réchauffement climatique

Nos résultats sont intéressants du fait qu'ils touchent à la question, plus générale, des conséquences des changements climatiques sur la dynamique des proliférations de cyanobactéries, en particulier, pour les zones tropicales et subtropicales dans lesquelles peu de travaux sont disponibles par rapport à la grande masse de travaux répertoriés dans les zones tempérées (e.g. Jöhnk *et al.*, 2008 ; Michalak *et al.*, 2016). Dans ce contexte, nombreux sont les travaux qui ont discuté des modifications au sein des individus liées aux changements de la température de l'eau ou encore l'eutrophisation des écosystèmes aquatiques qui s'accroît de plus en plus. Par exemple, les expérimentations de Duan *et al.* (2018) ont suggéré une augmentation significative de la taille des colonies de *Microcystis wasenbergii* et *M. ichthyoblabe* lorsque la température passe de 15 °C à 25 °C. Par ailleurs, ces mêmes travaux ont montré que la disponibilité du phosphore, à des concentrations élevées, permettrait aussi l'apparition de colonies plus large.

Toutefois, si ces certains travaux ont traité des changements au sein de l'individu lui-même, d'autres ont discuté des changements de la composition des communautés. En Chine, une étude récente portant sur la relation des fluctuations des niveaux du réservoir Hongfeng avec les changements des communautés phytoplanctoniques (Li

et al., 2017) a montré un remplacement de larges communautés phytoplanctoniques et cyanobactéries filamenteuses par des groupes fonctionnels différents, caractérisés par des petites tailles, appartenant aux Chlorophycées et aux Cryptophycées. Ces modifications sont engendrées essentiellement par la variation du niveau du réservoir ; Cette variation du niveau du plan d'eau constitue donc, à elle seule, une variable complexe puisque elle intègre plusieurs effets physiques.

Nos travaux sont, en revanche, les premiers à montrer que, par des effets directs ou indirects, les changements climatiques pourraient même favoriser des associations de cyanobactéries connues pour leurs occupations de niches écologiques différentes. Ils suggèrent, par exemple, que les variations dans le niveau des lacs dans les zones méditerranéennes et tempérées en raison de phénomènes des pluies intenses ou de sécheresses prolongées pourraient entraîner des changements spectaculaires dans les communautés des cyanobactéries responsables de la formation des blooms. Cette hypothèse est à prendre en considération car à la lumière des données produites par Laborde *et al.* (2010) une réduction d'environ 15% des précipitations est prévue dans notre région d'étude (Nord-Est de l'Algérie) au cours des prochaines décennies ; ce qui entraînerait une réduction d'environ 40% des ressources en eau de surface.

Nos observations pendant l'hiver 2013-2014 ont montré qu'un hiver doux pourrait favoriser la persistance et même la croissance des cellules de *Microcystis sp.* dans les écosystèmes d'eau douce ayant pour conséquences l'apparition des proliférations plus intenses durant les mois qui vont suivre, comme cela a été expliqué ci-dessus.

Par ailleurs, le prolongement des chaleurs jusqu'en automne favoriserait les conditions d'anoxies au fond de la colonne d'eau ; ce qui entrainerait la remise en suspension du phosphore séquestré dans les sédiments et augmenterait sa disponibilité, comme cela a été observé, en automne 2014, dans la retenue de Hammam Debagh. Il est connu aussi que la diffusion de Fe^{2+} à partir de sédiments anoxiques est une source majeure de Fe pour les cyanobactéries, qui selon Molot *et al.*, (2014) l'acquièrent en migrant vers le bas dans des eaux anoxiques riches en Fe^{2+} .

Une des limites de nos travaux tient au fait de ne pas avoir intégré, dans notre analyse, le paramètre "lumière" dans la compétition entre *P. rubescens* et *Microcystis sp.* ; Ceci est dû au manque de données sur cette variable. Les travaux récents de Torres *et al.* (2016), sur l'effet de la lumière dans la compétition entre *Microcystis aeruginosa* et

Planktothrix agardhii, ont montré que *M. aeruginosa* est meilleur concurrent pour la lumière qu'on ne le pensait auparavant et que cette espèce est capable de dominer même dans des conditions de faible intensité lumineuse. Aucune donnée sur l'effet de la lumière dans la compétition entre *P. rubescens* et *Microcystis sp.* n'est disponible ; toutefois, Oberhaus *et al.* (2007) rapportent que *P. rubescens* peut surmonter *P. agardhii* à une très faible luminosité et à basse température. Par conséquent, les turbidités élevées engendrées, probablement, par les fortes pluies survenues en hiver et au début du printemps 2015, en combinaison avec des températures plus basses pourraient avoir contribué à la dominance de *P. rubescens* dans le réservoir de Hammam Debagh au printemps 2015.

Les données sur les cyanobactéries en Afrique du Nord sont également très intéressantes à considérer pour leur intérêt potentiel à montrer ce qui pourrait se produire dans les zones tempérées en conséquence du réchauffement climatique puisque à l'échelle mondiale, ce qui est aujourd'hui considéré comme un événement extrêmement chaud pourrait devenir la norme dans un "climat de serre" d'ici 2100 (Gallina *et al.*, 2011).

5.1.2. Potentiel toxique des cyanobactéries dans notre région d'étude

Un des résultats inattendus de la présente étude, sur la toxicité potentielle des cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh, est l'enregistrement des faibles teneurs en MCs (<0,2 eq.MC-LR) durant les périodes de dominance de *Planktothrix rubescens* dans ce réservoir. Des résultats similaires ont été observés lors d'une expertise menée, par notre équipe lors du printemps 2012, suite au développement spectaculaire d'un bloom de *P. rubescens*. Nous avons, en effet, enregistré des teneurs n'excédant pas 0,5 µg L⁻¹ pour des abondances de *P. rubescens* de l'ordre de 3x10⁶ cell mL⁻¹.

Les microcystines sont, à travers le monde, régulièrement impliquées dans les blooms de *Planktothrix rubescens* et *P. agardhii*, contrairement aux autres espèces de ce genre (e.g. *P. pseudagardhii*) (Kurmayer *et al.*, 2016 ; Briand *et al.*, 2005 ; Vareli *et al.*, 2009 ; Posch *et al.*, 2015). Une étude menée dans le lac Alto Flumendosa en Sardaigne, par Stefanelli *et al.* (2017), signale des teneurs de 9,74 µg L⁻¹ de microcystines totales lorsque *P. rubescens* était dominante en mai 2012 avec une abondance de l'ordre de 1,3 x10⁶ cell mL⁻¹.

Ces constatations, quant aux faibles teneurs en microcystines associées aux proliférations de *P. rubescens*, montrent que les teneurs en cyanotoxines ne sont pas forcément liées à l'abondance cellulaire des cyanobactéries, ce qui est tout à fait logique (Lürling *et al.*, 2017) et soulève la question sur les raisons de ces faibles teneurs. Néanmoins, ces résultats attirent notre attention sur la limite de la présente étude à répondre à cette question puisque nous n'avons pas considéré les génotypes producteurs de microcystines notamment le cluster *mcy*.

Les travaux réalisés par Ostermaier *et al.* (2012) dans le lac Zurich sur les populations de cette espèce, durant 29 ans, ont montré une stabilité de la dominance du génotype toxique témoignant de l'adaptation d'un génotype qui a conservé le cluster de gènes qui codent pour la MC lors de l'évolution. En parallèle, une présence de génotypes inactifs formant une très faible sous-population mais aussi stable tout au long des 29 ans. Cette stabilité temporelle, dans un même site, a été aussi rapportée par Sabart *et al.* (2010) pour le genre *Microcystis*. Toutefois, chez certaines espèces, la cooccurrence des producteurs et non-producteurs de toxines peut également être due à la présence/absence de ces gènes (Lavoie *et al.*, 2007). Selon Kurmayer *et al.* (2004), il semble que les gènes associés à la production de toxines soient toujours présents chez certaines espèces et que la cooccurrence de producteurs et non-producteurs de toxines soit uniquement due à l'inactivation de ces gènes.

Dans ce contexte, cette activation/inactivation pourrait être modulée par des variables environnementales (Neilan *et al.*, 2013). Une étude récente (Lürling *et al.*, 2017) a montré, par des expérimentations au laboratoire, que l'eutrophisation peut conduire à une augmentation de la concentration en MC estimée à 24 fois et 45 fois lorsque la température a été élevée à 25 °C.

5.2. Phycosphère des cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh et dans le lac Oubeira

L'intégration des NGS dans l'étude de la diversité des cyanobactéries et des communautés bactériennes nous a permis une investigation plus approfondie de la diversité de ces communautés suite à l'accès aux séquences correspondant aux espèces dites « rares ». Jusque-là les travaux antérieurs, réalisés dans nos plans d'eaux, se sont essentiellement basés sur une approche purement morphologique ; les résultats obtenus ont permis d'inventorier une dizaine, voire une vingtaine

d'espèces de cyanobactéries (Boussadia *et al.*, 2015 ; Saoudi *et al.*, 2015 ; Branes *et al.*, 2013).

Par ailleurs, l'approche de métagénomique que nous avons utilisé, dans le cadre de cette étude, nous a permis l'acquisition d'informations non seulement qualitatives mais aussi quantitatives (nombre de reads) dans les deux sites étudiées. Même si selon certains auteurs les abondances relatives des OTUs obtenues par le séquençage ne sont pas satisfaisantes (Amend *et al.*, 2010), nous avons, toutefois, pu valider les abondances relatives des cyanobactéries dominantes (i.e. *Microcystis* et *Planktothrix rubescens*) obtenues par le séquençage massif de la région V3-V4 de l'ADNr 16S ; et ce par les fortes corrélations positives avec les comptages de ces même cyanobactéries par l'approche microscopique dans la retenue Hammam Debagh.

Notre étude de la phycosphère des cyanobactéries par une approche métagénomique nous a permis d'identifier les communautés bactériennes sans avoir accès à l'isolement et la culture de celles-ci; cette approche nous a aussi permis d'éviter, pour leur identification et énumération, l'application d'une batterie de tests et d'analyses biochimique et sérologique). En effet, le challenge que présente le développement de méthodes d'identification et d'énumération des bactéries bioindicatrices et/ou pathogènes dans un écosystème quelconque est considérable. Si certaines bactéries sont faciles à cultiver et à énumérer (e.g. bactéries indicatrices des contaminations fécales), d'autres bactéries sont difficiles à cultiver voir incultivables (i.e. bactéries viables non cultivables) d'où l'avantage que présentent ces nouvelles générations de séquençage (e.g. Tan *et al.*, 2015).

Un des points fort de notre travail sur les communautés bactériennes associées aux cyanobactéries est l'étude de l'évolution saisonnière de la phycosphère ; Jusque-là, la majorité des études des phycosphères de cyanobactéries est ponctuelle et porte sur un moment précis de la prolifération. L'étude de l'aspect saisonnier, nous permet de suivre l'implication des paramètres physico-chimiques dans l'évolution temporelle de ces communautés.

L'ensemble de résultats obtenus sont intéressants, notamment, en ce qui concerne la question relative à la prédiction des proliférations des cyanobactéries (mise en place mais aussi devenir des biomasses générées). En effet, jusque-là beaucoup de travaux ont pu associer certaines variables physico-chimiques à ces proliférations de

cyanobactéries. Dans ce contexte, les nutriments apparaissent au premier rang et sont suivis par les variables climatiques, notamment, la température et la stabilité de la colonne d'eau (Duan *et al.*, 2018 ; Ma *et al.*, 2014). Dans le lac Oubeira, nos résultats révèlent clairement l'impact de la température, en période estivale et automnale, sur les cyanobactéries et leurs communautés bactériennes associées. L'importance de l'impact immédiat de la température sur ces communautés est aussi rapportée par Arandia-Gorostidi *et al.* (2016) ; ces auteurs notent, en effet, que l'augmentation de la température peut entraîner une augmentation, à 80%, de l'abondance du phytoplancton lié aux bactéries hétérotrophes. Ces mêmes auteurs notent aussi que l'augmentation de la température peut entraîner, dans un sens, une augmentation à 17% du transfert du carbone (C) depuis le phytoplancton aux bactéries et dans un autre sens, une augmentation à 50% du transfert de l'azote des bactéries aux phytoplanctons.

Il est bien connu que certaines bactéries hétérotrophes sont capable de dégrader et d'utiliser les molécules synthétisées par des cyanobactéries, y compris les glucides, les peptides, les toxines et d'autres composés ; les produits obtenus vont servir comme sources de carbone ou d'azote (Heck *et al.*, 2016). Ainsi, plusieurs membres de la classe des Proteobacteria, connus pour leur attachement aux cyanobactéries, sont impliqués dans la lyse cellulaire et la mort de plusieurs espèces de cyanobactéries (Tang *et al.*, 2009 ; Shao *et al.*, 2014). Dans le réservoir de Villerest, Parveen *et al.* (2013) ont signalé que les colonies de *Microcystis* se sont enrichies en Gammaproteobacteria, en particulier, à la fin de l'efflorescence ; ces auteurs pensent que cet enrichissement serait, en partie, engendré par une disponibilité croissante de la matière organique générée par la prolifération de *M. aeruginosa*.

De plus, des conditions d'hypoxie peuvent être observées suite à ces événements et peuvent se traduire par l'apparition de certaines communautés bactériennes dont le métabolisme est strictement anaérobie tel que les Fusobacteria observés dans le lac Oubeira. Dans ce contexte, il est important de signaler que si la retenue Hammam Debagh est alimentée uniquement par l'Oued Bouhamdane, le lac Oubeira, quant à lui, est le point de convergence de plusieurs oueds (Day L'Graa, Bou-Marchen, Demnet-Erihan et Messida) dont certains charrient des eaux usées et en l'occurrence une importante matière organique.

Conclusion générale et perspectives

Au cours de nos travaux de recherche, nous avons mis en évidence la coexistence et la prolifération alternée dans un même plan d'eau ; de deux cyanobactéries connues pour leurs occupations de niches écologiques différentes. Nos travaux nous ont permis de démontrer l'impact conjugué de la hauteur d'eau du réservoir, la profondeur de mélange et la température de l'eau sur la dynamique de la cohabitation et la compétition survenant entre *Planktothrix rubescens* et *Microcystis sp.* A la lumière de ces résultats, il pourrait être envisagé de contrôler les proliférations de ces deux espèces de cyanobactéries, en régulant le niveau d'eau du lac pendant la période hivernale.

Compte tenu du faible potentiel toxique de *Planktothrix rubescens*, il serait plus judicieux d'intégrer l'étude des génotypes toxiques et non toxiques de MCs dans les prochaines études dans la retenue Hammam Debagh afin de mieux comprendre pourquoi cette espèce connue pour son potentiel toxique important ne produit pas autant de MCs que dans les lacs des pays du Nord d'autant plus qu'une extrapolation n'est pas possible vu que l'expression ou la non-expression de ces gènes dépendrait des conditions environnementales. Cette composante de la problématique des proliférations des cyanobactéries permettrait de mieux caractériser les dangers liés à un éventuel bloom de *Planktothrix rubescens* tel que observé en 2012.

Dans ce contexte, il est intéressant de poursuivre les études de la dynamique des cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh afin d'apporter d'autres éléments de réponse en plus de ces facteurs environnementaux impliqués dans le succès adaptatif de l'une des cyanobactéries dominantes. Ainsi, pour confirmer nos hypothèses et mieux comprendre le fonctionnement de ce plan d'eau, il serait nécessaire de disposer d'une plus longue série de données et donc de poursuivre le suivi engagé.

Par ailleurs, notre étude de la dynamique saisonnière des phycosphères de cyanobactéries dans la retenue Hammam Debagh et le lac Oubeira a montré des assemblages très semblables avec une dominance des Proteobacteria dans ces deux plans d'eau très différents du point de vue du niveau trophique.

Cette étude est non seulement la première à décrire ces communautés au Nord de l'Afrique mais aussi nous a permis la mise en évidence de certaines particularités des communautés bactériennes comparées à ce qui est répertorié dans la littérature tel que

la mise en évidence dans le lac Oubeira d'un groupe bactérien appartenant aux Fusobacteria qu'on ne retrouve pas généralement dans les eaux douce avec des proportion aussi élevées.

L'ensemble de nos travaux ont montré que les variables environnementaux impactent la dynamique saisonnière des communautés bactériennes et ont montré des spécificités dans chacun des deux plans d'eau. Le lac Oubeira étant caractérisé par une stabilité de ces communautés en été et en automne où les températures sont les plus élevées et les blooms de cyanobactéries sont observés. Tandis que, dans la retenue de Hammam Debagh les communautés bactériennes changent souvent, ceci a été expliqué par le caractère mésotrophe de ce plan d'eau et les nombreux facteurs et processus qui peuvent être impliquées dans ces variations.

Malgré les différences de ces deux plans d'eaux, nos résultats nous ont permis d'identifier certains ordres (e.g. Caulobacterales et les Fusobacterales) qui se trouvaient associées aux proliférations des cyanobactéries dans ces deux plans d'eau. Les résultats obtenus constituent une feuille de route pour mieux comprendre les facteurs et processus impliqués dans les interactions entre les cyanobactéries et les communautés bactériennes dans notre région qui est encore un terrain vierge pour ces études.

Références bibliographiques

- Abonyi, A. (2014). Phytoplankton functional group composition along the River Loire (France): A limnological approach towards an understanding of phytoplankton longitudinal processes and ecological status indication, (July). <https://doi.org/10.13140/2.1.1293.6484>
- Alayat, H., El Khattabi, J., & Lamouroux, C. (2013). Evolution Spatiale Des Caractéristiques Physico-Chimiques Conditions Sévères De La Sècheresse (Extrême N.E. Algérien). *European Scientific Journal*, 9(36), 564–579.
- Amarouche-Yala, S., Benouadah, A., El Ouahab Bentabet, A., & López-García, P. (2014). Morphological and phylogenetic diversity of thermophilic cyanobacteria in Algerian hot springs. *Extremophiles*, 18(6), 1035–1047. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0680-7>
- Amend, A. S., Seifert, K. A., & Bruns, T. D. (2010). Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: Does read abundance count? *Molecular Ecology*, 19(24), 5555–5565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04898.x>
- Amrani, A., Nasri, H., & Azzouz, A. (2014). Variation in Cyanobacterial Hepatotoxin (Microcystin) Content of Water Samples and Two Species of Fishes Collected from a Shallow Lake in Algeria. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 66(3), 379–89. <https://doi.org/10.1007/s00244-013-9993-2>
- Arandia-Gorostidi, N., Weber, P. K., Alonso-Sáez, L., Morán, X. A. G., & Mayali, X. (2016). Elevated temperature increases carbon and nitrogen fluxes between phytoplankton and heterotrophic bacteria through physical attachment. *The ISME Journal*, 11(3), 641–650. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.156>
- Azam, F. et Malfatti, F. (2007). Microbial Structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*. 5(10), 782-791.
- Azevedo, S.M.F.O., Carmichael, W.W., Jochimsen, E.M., Rinehart, K.L., Lau, S., Shaw, G.R., Eaglesham, G.K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*. 181–182, 441–446.
- Bade, D.L. (2005). Lake Ecosystems (Stratification and Seasonal Mixing Processes, Pelagic and Benthic Coupling), in: Anderson, M.G. (Ed.), *Encyclopedia of Hydrological Sciences*. John Wiley & Sons.
- Baldo, L., Riera, J. L., Tooming-Klunderud, A., Albà, M. M., & Salzburger, W. (2015). Gut microbiota dynamics during dietary shift in eastern African cichlid fishes. *PLoS ONE*, 10(5), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127462>
- Barroin, G. (1999). Limnologie appliquée au traitement des lacs et des plans d'eau. *Les Etudes des Agences de l'Eau*, 62, 215 p.
- Behrenfeld, M. J., Randerson, J.T., McClain, C.R., Feldman, G.C., Los, S.O., Tucker, C.J., Falkowski, P.G., Field, C.B., Frouin, R., Esaias, W.E., Kolber, D.D et Pollack, N.H. (2001). Biospheric primary production during an ENSO transition. *Science*. 291(5513), 2594–2597.
- Bell, W., & Mitchell, R. (1972). Chemotactic and growth responses of marine bacteria

- to algal extracellular products. *Biological Bulletin*, 143(2), 265–277.
- Bentley, D. R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H. P., Smith, G. P., Milton, J., Brown, C. G., ... Konstantinos, D. (2009). Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry. *Nature*, 456(7218), 53–59. <https://doi.org/10.1038/nature07517>
- Benyacoub, S., Louanchi, M., Baba Ahmed, R., Benhouhou, S., Boulahbel, R., Chalabi, B., Haou, F., Rouag, R. & Ziane, N. (1998). Plan directeur du parc national d'El Kala et du complexe des zones humides (wilaya d'El Tarf), 300p.
- Berg, K. a, Lyra, C., Sivonen, K., Paulin, L., Suomalainen, S., Tuomi, P., & Rapala, J. (2009). High diversity of cultivable heterotrophic bacteria in association with cyanobacterial water blooms. *The ISME Journal*, 3(3), 314–25. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.110>
- Bittencourt-oliveira, M. C., Botânica, D. De, Biociências, I. De, São, U. De, Paulo, R., & Bolch, C. J. S. (2001). Genetic variability of brazilian strains of the microcystis aeruginosa complex (cyanobacteria / cyanophyceae) using the phycocyanin intergenic spacer and flanking regions (cpc ba) 1 The genetic and morphological variability among 15 Brazilian strains. *Journal of Phycology*, 818, 810–818.
- Bornet, E., Flahaut, C. (1886-1888). Révision des Nostocacées hétérocystées. *Ann. Sci. Bot. ser.7.* 3, 323-381, 4, 343-373, 5, 51-129, 7, 177-262.
- Bouaïcha N., Maatouk I., Vincent G. & Levi Y. (2002). A colorimetric and fluorometric microplate assay for the detection of microcystin-LR in drinking water without preconcentration. *Food and Chemical Toxicology*. 40, 1677–1683.
- Boussadia, M. I., Sehli, N., Bousbia, A., Ouzrout, R., & Bensouilah, M. (2015). The effect of Environmental nvironmental Factors on Cyanobacteria AbundanceinOubeira Abundancein ubeira Lake (Northeast Algeria). *Research Journal Of Fisheries And Hydrobiology*, 10(14), 157–168.
- Brahmia, Z. (2016). Rôle fonctionnel du lac Oubeira et du lac Mellah (Parc National d'El-Kala) pour les oiseaux marins.
- Branes, Z., Abdi, A., Makhlof, O., & Amblard, C. (2013). Dynamic densities and specific cyanobacteria biomass of Oubeira Lake (National Parc of Elkala, Algeria). *Environmental Research Journal*, 7(1), 9–14.
- Briand, J. F., Jacquet, S., Flinois, C., Avois-Jacquet, C., Maisonnette, C., Leberre, B., & Humbert, J. F. (2005). Variations in the microcystin production of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) assessed from a four-year survey of Lac du Bourget (France) and from laboratory experiments. *Microbial Ecology*, 50(3), 418–428. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-0186-z>
- Brient, L., Lengronne, M., Bertrand, E., Rolland, D., Sipel, A., Steinmann, D., Baudin, I., Legeas, M., Le Rouzic, B., Bormans, M. (2008). A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. *J. Environ. Monit*, 10(2): 248–255.
- Brunberg, A. K. (1999). Contribution of bacteria in the mucilage of *Microcystis* spp. (Cyanobacteria) to benthic and pelagic bacterial production in a hypereutrophic lake. *FEMS Microbiology Ecology*, 29(1), 13–22.

- [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00126-3](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00126-3)
- Buchan, A., LeClerc, G. R., Gulvik, C. A., & Gonzalez, J. M. (2014). Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 12(10), 686–698. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3326>
- Bukowska, A., Kaliński, T., Koper, M., & Kostrzevska-szlakowska, I. (2017). Predicting blooms of toxic cyanobacteria in eutrophic lakes with diverse cyanobacterial communities. *Scientific Reports*, 7(8342), 1–12.
- Byerly GR, Lowe LS, Walsh MM. (1986). Stromatolites from 3300–3500 Myr Swaziland Supergroup, Barbeton Mountain Land, South Africa. *Nature* 319, 489–491.
- Cai, H. Y., Yan, Z. sheng, Wang, A. J., Krumholz, L. R., & Jiang, H. L. (2013). Analysis of the Attached Microbial Community on Mucilaginous Cyanobacterial Aggregates in the Eutrophic Lake Taihu Reveals the Importance of Planctomycetes. *Microbial Ecology*, 66(1), 73–83. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0224-1>
- Cai, H., Shi, Y., Wang, Y., Cui, H., & Jiang, H. (2017). *Aquidulcibacter paucihalophilus* gen. nov., sp. nov., a novel member of family Caulobacteraceae isolated from cyanobacterial aggregates in a eutrophic lake. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110(9), 1169–1177. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0889-4>
- Caldwell, D. E., & Caldwell, S. J. (1978). A Zoogloea sp. associated with blooms of *Anabaena flos-aquae*. *Canadian Journal of Microbiology*, 24(8), 922–931. <https://doi.org/10.1139/m78-154>
- Cannell, R. J. P., Owsianka, A. M., & Walker, J. M. (1988). Results of a large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. *British Phycological Journal*, 23(1), 41–44. <https://doi.org/10.1080/00071618800650051>
- Cao, C.J., Zheng, B.H., Zhang, J.L., Huang, M.S., Chen, Z.L. (2009). Systematic investigation into winter and spring algal blooms in Daning River of three Gorges reservoir. *Environmental Science*, 30 (12), 3471e3480.
- Carmichael, W. W. (1992). Cyanobacteria secondary metabolites - the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*, 72, 445–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01858.x>
- Carmichael, W. W., & Boyer, G. L. (2016). Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms : Implications for the North American Great Lakes. *Harmful Algae*, 54, 194–212. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.002>
- Casamayor, E. O., Pedrós-Alió, C., Pedrós-Alió, C., Muyzer, G., Amann, R. (2002). Microheterogeneity in 16S Ribosomal DNA-Derived Bacterial Populations from a Stratified Planktonic Environment Is Related to Temporal Changes and to Ecological Adaptations. *Microbiology*, 68(4), 1706–1714. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1706>
- Casamayor, E. O., Schäfer, H., Bañeras, L., Pedrós-Alió, C., & Muyzer, G. (2000). Identification of and spatio-temporal differences between microbial assemblages

- from two neighboring sulfurous lakes: Comparison by microscopy and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(2), 499–508.
<https://doi.org/10.1128/AEM.66.2.499-508.2000>
- Case, R.J., Boucher, Y., Dahllof, I., Holmstrom, C., Doolittle, W.F. & Kjelleberg, S. (2007). Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. – *Appl. Env. Mic. Biol.* 73, 278–288.
- Quiblier, C., Wood, S., Echenique Subiabre, I., Heath, M., Villeneuve, A., & Humbert, J.-F. (2013). A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria - Ecology, toxin production and risk management. *Water Research*, 47(15), 5464–5479.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.042>
- Chalabi, B., Skinner, J., Harrison, J., & Van Dijk. (1985). Les zones humides du Nord-Est Algérien en 1984. Observation ornithologiques. Report n°8. Sticking WIWO, Nederland, 45 p.
- Cheung, M. Y., Liang, S., & Lee, J. (2013). Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: A review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. *Journal of Microbiology*, 51(1), 1–10.
<https://doi.org/10.1007/s12275-013-2549-3>
- Chisholm, S.W. (1995). The iron hypothesis: Basic research meets environmental policy. *Reviews of Geophysics*. 33(2), 1277–1286.
- Chorus I. & Mur L. (1999). Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Chorus I. & Bartram J. (eds). London, Spon, E. & F.N., 416p .
- Claesson, M.J., Wang, Q., O’Sullivan, O., Greene-Diniz, R., Cole, J.R., Ross, R.P. (2010). Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res.* 38(22), e200.
- Cole, J. J. (1982). Interactions Between Bacteria and Algae in Aquatic Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 291–314.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001451>
- Crosbie, N.D., Teubner, K. & Weisse, T. (2003). Flow-cytometric mapping provides novel insights into the seasonal and vertical distributions of freshwater autotrophic picoplankton. *Aquat Microb Ecol*, 33, 53–66.
- D’alelio D, Gandolfi A, Boscaini A, Flaim G, Tolotti M, Salmaso N. (2011). *Planktothrix* populations in subalpine lakes: Selection for strains with strong gas vesicles as a function of lake depth, morphometry and circulation. *Freshw Biol.* 56(8), 1481–93.
- De Belair, G. (1990). Structure, fonctionnement et perspective de gestion de quatre éco-complexe lacustres et marécageux (El Kala, Algérie), extrême orientale. Thèse de doctorat, Université USTL Montpellier II, 193p.
- De Figueiredo, D. R., Reboleira, A. S. S. P., Antunes, S. C., Abrantes, N., Azeiteiro, U., Gonçalves, F., & Pereira, M. J. (2006). The effect of environmental

- parameters and cyanobacterial blooms on phytoplankton dynamics of a Portuguese temperate lake. *Hydrobiologia*, 568(1), 145–157.
<https://doi.org/10.1007/s10750-006-0196-y>
- Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohlack, T., Mischke, U., & Wiedner, C. (2012). Cyanobacteria and cyanotoxins: The influence of nitrogen versus phosphorus. *PLoS ONE*, 7(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038757>
- Dorioz, J. M., Quetin, P., Lazzarotto, J. A., Bosse J. P. et Moille J. P. (2004). Bilan du phosphore dans un bassin versant du lac Léman : Conséquences pour la détermination de l'origine des flux exportés. *Revue des sciences de l'eau*, 329–354.
- Douma, M., Ouahid, Y., Campo, F. F. Del, Loudiki, M., Mouhri, K., & Oudra, B. (2010). Identification and quantification of cyanobacterial toxins (microcystins) in two Moroccan drinking-water reservoirs (Mansour Eddahbi, Almassira). *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1–4), 439–450.
<https://doi.org/10.1007/s10661-008-0708-5>
- Duan, Z., Tan, X., Parajuli, K., Upadhyay, S., Zhang, D., Shu, X., & Liu, Q. (2018). Colony formation in two *Microcystis* morphotypes: Effects of temperature and nutrient availability. *Harmful Algae*, 72, 14–24.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.12.006>
- Dunton PG, Walsby AE. (2005). The diameter and critical collapse pressure of gas vesicles in *Microcystis* are correlated with GvpCs of different length. *FEMS Microbiol Lett.* 247(1) 37–43.
<https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.04.026>
- Edwards, M., Richardson, A.J. (2004). Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature*, 430, 881–884.
- El Herry, S., Nasri, H., & Bouaïcha, N. (2009). Morphological characteristics and phylogenetic analyses of unusual morphospecies of *Microcystis novacekii* forming bloom in the Cheffia Dam (Algeria). *Journal of Limnology*, 68(2), 242–250.
<https://doi.org/10.3274/JL09-68-2-08>
- El-Shehawy R, Gorokhova E, Fernández-Piñas F, del Campo FF. (2012). Global warming and hepatotoxin production by cyanobacteria: What can we learn from experiments? *Water Res.* 46, 1420–1429.
- Erik, J., Zwart, G., Agterveld, M. P. V. A. N., Gons, H. J., Ebert, J., & Laanbroek, H. J. (1999). Changes in Bacterial and Eukaryotic Community Structure after Mass Lysis of Filamentous Cyanobacteria Associated with Viruses†, 65(2), 1–7.
- Ernst, B., Hoeger, S. J., O'Brien, E., & Dietrich, D. R. (2009). Abundance and toxicity of *Planktothrix rubescens* in the pre-alpine Lake Ammersee, Germany. *Harmful Algae*, 8(2), 329–342.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.07.006>

- Falkowski, P. G., R. J. Scholes, E. Boyle, J. Canadell, D. Canfield, J. J. Elser, N. Gruber, K. Hibbard, P. Hogberg, S. Linder, F. T. Mackenzie, B. Moore III, T. Pedersen, Y. Rosenthal, S. Seitzinger, V. Smetacek, and W. Steffen. (2000). The Global Carbon Cycle: A Test of Our Knowledge of Earth as a System. *Science* 290, 291–296.
- Fallon, R. D., & Brock, T. D. (1979). Lytic organisms and photooxidative effects: Influence on blue-green algae (cyanobacteria) in Lake Mendota, Wisconsin. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(3), 499–505.
- Fastner, J., Flieger, I., Neumann, U. (1998). Optimal extraction of micro-cystin from field samples – a comparison of different solvent and procedures. *Wat Res* 32, 3177–3181
- Foster, J. S., Green, S. J., Ahrendt, S. R., Golubic, S., Reid, R. P., Hetherington, K. L., & Bebout, L. (2009). Molecular and morphological characterization of cyanobacterial diversity in the stromatolites of Highborne Cay, Bahamas. *The ISME Journal*, 3(5), 573–87.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2008.129>
- Fukami, K., Nishijima, T., & Ishida, Y. (1997). Stimulative and inhibitory effects on the growth of microalgae. *Hydrobiologia*, 358(1987), 185–191.
- Fuks, D., Radić, J., Radić, T., Najdek, M., Blažina, M., Degobbis, D., & Smodlaka, N. (2005). Relationships between heterotrophic bacteria and cyanobacteria in the northern Adriatic in relation to the mucilage phenomenon. *Science of the Total Environment*, 353(1–3), 178–188.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.015>
- Gallina, N., Anneville, O., & Beniston, M. (2011). Impacts of extreme air temperatures on cyanobacteria in five deep peri-alpine lakes. *Journal of Limnology*, 70(2), 186–196.
<https://doi.org/10.3274/JL11-70-2-04>
- Gehring, M.M., Adler, L., Roberts, A.a., Moffitt, M.C., Mihali, T.K., Mills, T.J.T., Neilan, B.A., 2012. Nodularin, a cyanobacterial toxin, is synthesized in plants by symbiotic *Nostoc* sp. *ISME J.* 6 (10), 1834–1847
- Ger, K. A., Hansson, L. A., & Lüring, M. (2014). Understanding cyanobacteria-zooplankton interactions in a more eutrophic world. *Freshwater Biology*, 59(9), 1783–1798.
<https://doi.org/10.1111/fwb.12393>
- GIEC. (2014). Rapport de synthèse. Contribution des Groupes de travail I, II et III au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat [Sous la direction de l'équipe de rédaction principale, R.K. Pachauri et L.A. Meyer]. GIEC, Genève, Suisse, 161 p
- Giovannoni, S. J. (1990). Genetic diversity in Sargasso sea bacterioplankton. *Nature*, 345, 183–187. <https://doi.org/10.1038/346183a0>
- Gomont, M. (1892). Monographie des Oscillatoire´es (Nostocace´es homocyste´es). *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser.* 7 (16), 91–264.

- Grafton, R. Q., Pittock, J., Davis, R., Williams, J., Fu, G., Warburton, M., ... Quiggin, J. (2013). Global insights into water resources, climate change and governance. *Nature Climate Change*, 3(4), 315–321.
<https://doi.org/10.1038/NCLIMATE1746>
- Greuter W., Barrie F.R., Burdet H.M., Chaloner W.G., Demoulin V., Hawksworth D.L., Jorgensen P.M., Nicolson D.H., Silva P.C., Trehane P. & McNeill J. (eds). (1994). *International Code of Botanical Nomenclature (Tokyo Code)*. Königstein, Koeltz Scientific Books. 388 p.
- Grossart, H. P., Tang, K. W., Kjørboe, T., & Ploug, H. (2007). Comparison of cell-specific activity between free-living and attached bacteria using isolates and natural assemblages. *FEMS Microbiology Letters*, 266(2), 194–200.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00520.x>
- Grossman, AR., Bhaya, D., & He, Q. (2001). Tracking the light environment by cyanobacteria and the dynamic nature of light harvesting. *J Biol Chem*. 276, 11449-11452.
- Halstvedt, C.B., Rohrlack, T., Andersen, T., Skulberg, O., Edvardsen, B. (2007). Seasonal dynamics and depth distribution of *Planktothrix* spp. in Lake Steinsfjorden (Norway) related environmental factors. *J. Plankton. Res.* 29(5), 471–482.
- Harke, M.J., Steffen, M.M., Gobler, C.J., Otten, T.G., Wilhelm, S.W., Wood, S.A. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae*. 54, 4–20.
- Heck, K., Machineski, G. S., Alvarenga, D. O., Vaz, M. G. M. V., Varani, A. de M., & Fiore, M. F. (2016). Evaluating methods for purifying cyanobacterial cultures by qPCR and high-throughput Illumina sequencing. *Journal of Microbiological Methods*, 129, 55–60.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.07.023>
- Heresztyn, T., & Nicholson, B. C. (2001). Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay. *Water Research*, 35(13), 3049–3056.
[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00018-5)
- Hilly, J. (1962). *Etude géologique du massif de l'Edough et du Cap de fer (Est Constantinois)*. Service de la cartographie de l'Algérie, 408 p.
- Hoffman, L., Komárek, J. & Kaštovský, J. (2005): System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state in 2004. –*Algological Studies*. 95– 115.
- Höfle, M. G., Haas, H., & Dominik, K. (1999). Seasonal dynamics of bacterioplankton community structure in a eutrophic lake as determined by 5S rRNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3164–3174.
- Holland DP, Walsby AE. Digital recordings of gas-vesicle collapse used to measure turgor pressure and cell-water relations of cyanobacterial cells. *J. Microbiol. Methods*. 2009. 77(2), 214–224.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-08701-8>

- Huber, V., Wagner, C., Gerten, D., & Adrian, R. (2012). To bloom or not to bloom: Contrasting responses of cyanobacteria to recent heat waves explained by critical thresholds of abiotic drivers. *Oecologia*, 169(1), 245–256.
<https://doi.org/10.1007/s00442-011-2186-7>
- Jacquet, S., Briand, J.-F., Leboulanger, C., Avois-Jacquet, C., Oberhaus, L., Tassin, B., Humbert, J.-F. (2005). The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae*, 4(4), 651–672.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2003.12.006>
- Jacquet, S., Kerimoglu, O., Rimet, F., Paolini, G., & Anneville, O. (2014). Cyanobacterial bloom termination: The disappearance of *Planktothrix rubescens* from Lake Bourget (France) after restoration. *Freshwater Biology*, 59(12), 2472–2487.
<https://doi.org/10.1111/fwb.12444>
- Jann-Para, G., Schwob, I., & Feuillade, M. (2004). Occurrence of toxic *Planktothrix rubescens* blooms in lake Nantua, France. *Toxicon*, 43(3), 279–285.
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.12.005>
- Jenny, J. (2013). Réponses des grands lacs périalpins aux pressions anthropiques et climatiques récentes.
- Jöhnk, K. D., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P. M., & Stroom, J. M. (2008). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*, 14(3), 495–512.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01510.x>
- Kevern, N. R., King, D. L., & Ring, R. (2011). Lake Classification Systems – Part 1. In *Lake Classification Systems*. pp. 1–5.
- Khanchoul, K., Benslama, M., & Remini, B. (2010). Regressions on Monthly Stream Discharge to Predict Sediment Inflow to a Reservoir in Algeria. *Journal of Geography*, 2(1), 36–47.
- Kimmel, B. L., & Groeger, A. W. (1984). Lake and Reservoir Management factors controlling primary production in lakes and reservoirs : a perspective. *Lake and Reservoir Management*, 1(1), 277–281.
<https://doi.org/10.1080/07438148409354524>
- Kirkwood, A. E., Nalewajko, C., & Fulthorpe, R. R. (2006). The effects of cyanobacterial exudates on bacterial growth and biodegradation of organic contaminants. *Microbial Ecology*, 51(1), 4–12.
<https://doi.org/10.1007/s00248-004-0058-y>
- Knoll, A.H. (2003) *Life on a Young Planet: The First Three Billion Years of Evolution on Earth*. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press.
- Komárek J, Anagnostidis K. (1999). *Cyanoprokaryota: Part 1: Chroococcales. Süßwasser flora von Mitteleuropa Freshwater Flora of Central Europe*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Germany, 548p.

- Komárek J, Anagnostidis K. (2005). Cyanoprokaryota: Part 2: Oscillatoriales. Süßwasser flora von Mitteleuropa Freshwater Flora of Central Europe. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Germany, 759p.
- Komárek J. (2013): Cyanoprokaryota. 3. Heterocytous genera. – In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L.&Schagerl M. (eds), Süßwasserflora von Mitteleuropa/Freshwater flora of Central Europe, Springer Spektrum Berlin, Heidelberg, p. 1130.
- Komárek, J. (2014). Phenotypic and ecological diversity of freshwater coccoid cyanobacteria from maritime Antarctica and Islands of NW Weddell Sea . II . Jiří Komárek. Czech Polar Reports, 4(1), 17–39.
<https://doi.org/10.5817/CPR2014-1-3>
- Konopka A. (1981). Influence of temperature, oxygen and pH on a metalimnetic population of *Oscillatoria rubescens*. Appl Environ Microbiol. 42(1), 102–108.
- Konopka, A. E., Klemer, A. R., Walsby, A. E., & Ibelings, B. W. (1993). Effects of macronutrients upon buoyancy regulation by metalimnetic *Oscillatoria agardhii* in Deming Lake, Minnesota. Journal of Plankton Research, 15(9), 1019–1034.
<https://doi.org/10.1093/plankt/15.9.1019>
- Konopka, A., Bercot, T., and Nakatsu, C. (1999). Bacterioplankton community diversity in a series of thermally stratified lakes. Microb. Ecol. 38, 126–135.
- Kosten, S., Huszar, V. L. M., Bécares, E., Costa, L. S., Donk, E., Hansson, L.-A., ... Scheffer, M. (2012). Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. Global Change Biology, 18(1), 118–126.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02488.x>
- Kurmayer, R., Christiansen, G., Fastner, J., & B??rner, T. (2004). Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. Environmental Microbiology, 6(8), 831–841.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00626.x>
- Kurmayer, R., Deng, L., & Entfellner, E. (2016). Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix*. Harmful Algae, 54, 69–86.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.01.004>
- Laborde, J.-P., Gourbesville, P., Assaba, M., Demmak, A., & Belhouli, L. (2010). Climate evolution and possible effects on surface water resources of North Algeria. Current Science, (8), 8–25.
- Lapage, S.P., Sneath, P.H.A., Lessel, E.F., Skerman, V.B.D., Seeliger, H.P.R. and Clark, W.A. (1992). International Code of Nomenclature of Bacteria. (1990) revision. American Society for Microbiology, Washington D.C, USA, pp. 199.
- Lavoie, I., Laurion, I., Warren, A., & Vincent, W. (2007). Les fleurs d'eau de cyanobactéries (INRS rapport n°916), 124.
- Lawrence I, Bormans M, Oliver R, Ransom G, Sherman B, Ford P, Wasson B. (2000). Physical and nutrient factors controlling algal succession and biomass in Burrinjuck Reservoir Technical report, CRCFE, Canberra. (available on <http://burrinjuck.canberra.edu.au>).
- Lawton, L.A., Edwards, C., Codd, G.A., 1994. Extraction and high-performance liquid

- chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters. *Analyst* 119, 1525–1530
- Leflaive J, Ten-Hage L (2007) Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshw. Biol.* 52,199-214
- Leloup, M., Nicolau, R., Pallier, V., Yéprémian, C., & Feuillade-Cathalifaud, G. (2013). Organic matter produced by algae and cyanobacteria: Quantitative and qualitative characterization. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 25(6), 1089–1097.
[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60208-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60208-3)
- Lewis, W.M. (1983). A revised classification of lakes based on mixing, *Can. J. fish. Aquat. Sci.*, 40, 1779–1787.
- Li, H., Xing, P., & Wu, Q. L. (2012). The high resilience of the bacterioplankton community in the face of a catastrophic disturbance by a heavy *Microcystis* bloom. *FEMS Microbiology Ecology*, 82(1), 192–201.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01417.x>
- Li, Q., Xiao, J., Ou, T., Han, M., Wang, J., Chen, J., ... Salmaso, N. (2017). Impact of water level fluctuations on the development of phytoplankton in a large subtropical reservoir: implications for the management of cyanobacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1306-1318.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0502-4>
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Law, M. (2012). Comparison of next-generation sequencing systems. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012, 11p.
<https://doi.org/10.1155/2012/251364>
- Louamri, A. (2013). Le bassin-versant de la Seybouse (Algérie orientale): hydrologie et aménagement des eaux, 300p.
- Louati, I., Pascault, N., Debroas, D., Bernard, C., Humbert, J.-F., & Leloup, J. (2015). Structural Diversity of Bacterial Communities Associated with Bloom-Forming Freshwater Cyanobacteria Differs According to the Cyanobacterial Genus. *Plos One*, 10(11), e0140614.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140614>
- Lovejoy, C., Bowman, J. P., & Hallegraeff, G. M. (1998). Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolate (class Proteobacteria, Gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(8), 2806–2813.
<http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/64/8/2806>
- Lüring, M., Van Oosterhout, F., & Faassen, E. (2017). Eutrophication and warming boost cyanobacterial biomass and microcystins. *Toxins*, 9(2), 1–16.
<https://doi.org/10.3390/toxins9020064>
- M.P.R.H. (2004)." Ministère de la pêche et des ressources halieutiques Projet : connaissance des biomasses des lacs de la wilaya d'El Tarf et établissement des règles de gestion". Rapport D'expertise N°1 ; Fonctionnement des lacs, pp :172.

- Ma, J., Brookes, J. D., Qin, B., Paerl, H. W., Gao, G., Wu, P., ... Niu, H. (2014). Environmental factors controlling colony formation in blooms of the cyanobacteria *Microcystis* spp. in Lake Taihu, China. *Harmful Algae*, 31, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.10.016>
- MacKintosh, C., Beattie, K., Klumpp, S., Schluter, P. J., & Codd, G. A. (1990). Cyanobacterial microcystin- $\{LR\}$ is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants, 264(2), 187–192.
- Mansouri, Z. (2009). Les ressources en eau et gestion intégrée du bassin versant de l'oued Bouhamdane (Nord-Est Algérien).
- Marcon, E. (2017). *Mesures de la Biodiversité*.
- Mariani, M. A., Padedda, B. M., Kaštovský, J., Buscarinu, P., Sechi, N., Viridis, T., & Lugliè, A. (2015). Effects of trophic status on microcystin production and the dominance of cyanobacteria in the phytoplankton assemblage of Mediterranean reservoirs. *Scientific Reports*, 5, 1–16. <https://doi.org/10.1038/srep17964>
- Massana, R., Murray, A. E., Preston, C. M., Delong, E. F., Massana, R., Murray, A. E., & Preston, C. M. (1997). Vertical distribution and phylogenetic characterization of marine planktonic Archaea in the Santa Barbara Channel . Vertical Distribution and Phylogenetic Characterization of Marine Planktonic Archaea in the Santa Barbara Channel, 63(1), 50–56.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*, 59, 303–327. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.013>
- Messineo V, Mattei D, Melchiorre S, Salvatore G, Bogialli S, Salzano R, et al. (2006). Microcystin diversity in a *Planktothrix rubescens* population from Lake Albano (Central Italy). *Toxicon*, 48(2), 160–174.
- Michalak, A. M. (2016). Study role of climate change in extreme threats to water quality. *Nature*, 535, 349–350. <https://doi.org/10.1038/535349a>
- Micheletti, S., Schanz, F., & Walsby, A. E. (1998). The daily integral of photosynthesis by *Planktothrix rubescens* during summer stratification and autumnal mixing in Lake Zurich. *New Phytologist*, 139(2), 233–246. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00196.x>
- Michotey, V., Guasco, S., Boeuf, D., Morezzi, N., Durieux, B., Charpy, L., & Bonin, P. (2012). Spatio-temporal diversity of free-living and particle-attached prokaryotes in the tropical lagoon of Ahe atoll (Tuamotu Archipelago) and its surrounding oceanic waters. *Marine Pollution Bulletin*, 65(10–12), 525–537. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.009>
- Miri Y. (1996). Contribution à la connaissance des ceintures de végétation du lac Oubeira (Parc National d'El-Kala) : Approche phyto-écologique et analyse de l'organisation spatiale. Thèse. Magistère. INA. El-Harrach. Alger. 99 p.
- Molot, L. A., Watson, S. B., Creed, I. F., Trick, C. G., McCabe, S. K., Verschoor, M. J., ... Schiff, S. L. (2014). A novel model for cyanobacteria bloom formation: The

- critical role of anoxia and ferrous iron. *Freshwater Biology*, 59(6), 1323–1340.
<https://doi.org/10.1111/fwb.12334>
- Mou, X., Lu, X., Jacob, J., Sun, S., & Heath, R. (2013). Metagenomic Identification of Bacterioplankton Taxa and Pathways Involved in Microcystin Degradation in Lake Erie. *PLoS ONE*, 8(4).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061890>
- Nasri, H., Bouaïcha, N., & Harche, M. K. (2007). A New Morphospecies of *Microcystis* sp. Forming Bloom in the Cheffia Dam (Algeria): Seasonal Variation of Microcystin Concentrations in Raw Water and Their Removal in a Full-Scale Treatment Plant. *Environmental Toxicology*, 22(4), 341–448.
<https://doi.org/10.1002/tox>
- Nasri, H., El Herry, S., & Bouaïcha, N. (2008). First reported case of turtle deaths during a toxic *Microcystis* spp. bloom in Lake Oubeira, Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(2), 535–544.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.12.009>
- Neilan B.A, Jacobs D., Goodman A.E. (1995). Genetic diversity and phy- logeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(11), 3875–3883.
- Neilan, B. A., Pearson, L. A., Muenchhoff, J., Moffitt, M. C., & Dittmann, E. (2013). Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental Microbiology*, 15(5), 1239–1253.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02729.x>
- Niedermeyer, T. H. 2015. Anti- infective natural products from Cyanobacteria. *Planta Med.* 81:1309–1325.
- Nübel, U., Muyzer, G., Garcia-pichel, F., & Muyzer, G. (1997). PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria PCR Primers To Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria. *Microbiology*, 63(8), 3327–3332.
- Oberhaus, L., Briand, J. F., Leboulanger, C., Jacquet, S., & Humbert, J. F. (2007). Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. *Journal of Phycology*, 43(6), 1191–1199.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00414.x>
- Ostermaier, V., Schanz, F., Köster, O., & Kurmayer, R. (2012). Stability of toxin gene proportion in red-pigmented populations of the cyanobacterium *Planktothrix* during 29 years of re-oligotrophication of Lake Zürich. *BMC Biology*, 10(1), 100.
<https://doi.org/10.1186/1741-7007-10-100>
- Otsuka, S., Suda, S., Shibata, S., Oyaizu, H., Matsumoto, S., & Watanabe, M. M. (2001). A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 under the rules of the bacteriological code. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), 873–879.
<https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-873>

- Oudra B, Loudiki M, Sbiyyaa B, Martins R, Vasconcelos V, Namikoshi N. (2001). Isolation, characterization and quantification of microcystins (heptapeptides hepatotoxins) in *Microcystis aeruginosa* dominated bloom of LallaTakerkoust lake–reservoir (Morocco). *Toxicon*. 39(9), 1375–1381.
- Paerl, H. W. (1977). Role of heterotrophic bacteria in promoting N₂ fixation by *Anabaena* in aquatic habitats. *Microbial Ecology*, 4(3), 215–231.
<https://doi.org/10.1007/BF02015078>
- Paerl, H. W., & Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1(1), 27–37.
<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>
- Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*, 65(4), 995–1010.
<https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y>
- Paerl, H. W., & Pinckney, J. L. (1996). A mini-review of microbial consortia: Their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. *Microbial Ecology*, 31(3), 225–247. <https://doi.org/10.1007/BF00171569>
- Paerl, H. W., Dyble, J., Twomey, L., Pinckney, J. L., Nelson, J., & Kerkhof, L. (2002). Characterizing man-made and natural modifications of microbial diversity and activity in coastal ecosystems. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 81(1–4), 487–507.
<https://doi.org/10.1023/A:1020561422706>
- Paerl, H. W., Fulton, R. S., Moisaner, P. H., & Dyble, J. (2001). Harmful freshwater algal blooms, With an emphasis on cyanobacteria. *The Scientific World JOURNAL*, 1, 76–113.
<https://doi.org/10.1100/tsw.2001.16>
- Paerl, H. W., Gardner, W. S., Havens, K. E., Joyner, A. R., McCarthy, M. J., Newell, S. E., Scott, J. T. (2016). Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted both by climate change and anthropogenic nutrients. *Harmful Algae*, 54, 2013-222.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.09.009>
- Paerl, H. W., Hall, N. S., & Calandrino, E. S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Science of the Total Environment*, 409(10), 1739–1745.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.02.001>
- Paerl, H. W., Meeks, J. C., & Haselkorn, R. (2014). Mitigating Harmful Cyanobacterial Blooms in a Human-and Climatically Impacted World. *Life*, 4, 988–1012.
<https://doi.org/10.3390/life4040988>
- Parveen, B., Ravet, V., Djediat, C., Mary, I., Quiblier, C., Debroas, D., & Humbert, J. F. (2013). Bacterial communities associated with *Microcystis* colonies differ from free-living communities living in the same ecosystem. *Environmental Microbiology Reports*, 5(5), 716–724.
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12071>

- Peeters, F., Straile, D., Lorke, A., Ollinger, D. (2007). Turbulent mixing and phytoplankton spring bloom development in a deep lake. *Limnol. Oceanogr.* 52, 286–98
- Pepe-Ranney, C., Berelson, W. M., Corsetti, F. A., Treants, M., & Spear, J. R. (2012). Cyanobacterial construction of hot spring siliceous stromatolites in Yellowstone National Park. *Environmental Microbiology*, 14(5), 1182–1197.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02698.x>
- Pereira, S. R., Vasconcelos, V. M., & Antunes, A. (2013). Computational study of the covalent bonding of microcystins to cysteine residues--a reaction involved in the inhibition of the PPP family of protein phosphatases. *The FEBS Journal*, 280(2), 674–80.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08454.x>
- Posch, T., & Pernthaler, J. (2015). Seasonal patterns of microcystin-producing and non-producing *Planktothrix rubescens* genotypes in a deep pre-alpine lake. *Harmful Algae*, 50, 21–31.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.10.001>
- Premanandh, J., Priya, B., Teneva, I., Dzhambazov, B., Prabakaran, D., & Uma, L. (2006). Molecular Characterization of Marine Cyanobacteria from the Indian Subcontinent Deduced from Sequence Analysis of the Phycocyanin Operon (cpcB-IGS-cpcA) and 16S-23S ITS Region. *The Journal of Microbiology The Microbiological Society of Korea*, 44(6), 607–616.
- Puddick, J., Prinsep, M.R., Wood, S.A., Kaufononga, S.A., Cary, S.C., Hamilton, D.P., 2014. High levels of structural diversity observed in microcystins from *Microcystis* CAWBG11 and characterization of six new microcystin congeners. *Marine Drugs* 12 (11), 5372–5395.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tomes 2, C.N.R.S., Paris, 1170 p.
- Quiblier, C., Leboulanger, C., Sané, S., & Dufour, P. (2008). Phytoplankton growth control and risk of cyanobacterial blooms in the lower Senegal River delta region. *Water Research*, 42(4–5), 1023–34.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.09.030>
- Mcintosh, R. P. (1967). An Index of Diversity and the Relation of Certain Concepts to Diversity. In : *Ecology* 48(3), 392–404.
- Rantala, A. (2007). Evolution and Detection of Cyanobacterial Hepatotoxin Synthetase Genes.
- Rapala, J., Erkomaa, K., Kukkonen, J., Sivonen, K., & Lahti, K. (2002). Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay: Comparison of methods. *Analytica Chimica Acta*, 466(2), 213–231.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00588-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00588-3)
- Recknagel F, Adrian R, Kohler J, Cao H. (2016). Threshold quantification and short-term forecasting of *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Microcystis* in the polymictic

- eutrophic Lake Müggelsee (Germany) by inferential modelling using the hybrid evolutionary algorithm HEA. *Hydrobiologia*. 778, 61-74.
- Reynolds CS, Walsby AE. (1975). Water-blooms. *Biological Reviews*. 50, 437–481.
- Reynolds CS. (1987). Cyanobacterial water-blooms. *Advances in Botanical Research*. 13, 67–143.
- Reynolds, C. S. (1980). Phytoplankton assemblages and their periodicity in stratifying lake systems. *Holarctic Ecology*, 3(1978), 141–159.
- Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli, L., & Melo, S. (2002). Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal Of Plankton Research*, 24(5), 417–428.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M., Stanier, R.Y. (1979). Generic assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111, 1-61.
- Roderick Oliver, L., & Ganf, G. G. (2000). Freshwater blooms. In *The Ecology of Cyanobacteria* (pp. 149–194).
- Rooney-Varga, J. N., Giewat, M. W., Savin, M. C., Sood, S., Legresley, M., & Martin, J. L. (2005). Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine environment. *Microbial Ecology*, 49(1), 163–175. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-1057-0>
- Rueter, J. G., & Petersen, R. R. (1987). Micronutrient effects on cyanobacterial growth and physiology. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 21, 435-445.
- Sabart, M., Pobel, D., Briand, E., Combourieu, B., Salençon, M. J., Humbert, J. F., & Latour, D. (2010). Spatiotemporal variations in microcystin concentrations and in the proportions of microcystin-producing cells in several *Microcystis aeruginosa* populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(14), 4750–9. <https://doi.org/10.1128/AEM.02531-09>
- Salmaso, N. & Padisák. (2007). Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578(1),97-112.
- Salmaso, N., Luigi, N.-F., & Padisák, J. (2015). Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshwater Biology*, 60, 603–619. <https://doi.org/10.1111/fwb.12520>
- Samraoui, B., De Belair, G. (1998). Les zones humides de la Numidie orientale. Bilan des connaissances et perspectives de gestion. *Synthese N°4* (numero special). 1-85.
- Saoudi, A., Barour, C., Brient, L., Ouzrout, R., & Bensouilah, M. (2015). Environmental Parameters and Spatio-Temporal Dynamics of Cyanobacteria in the Reservoir of Mexa (Extreme North-East of Algeria). *Advances in Environmental Biology*, 9(June), 109–121.
- Sassolas, A., Catanante, G., Fournier, D., & Marty, J. L. (2011). Development of a colorimetric inhibition assay for microcystin-LR detection: comparison of the sensitivity of different protein phosphatases. *Talanta*, 85(5), 2498–503. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.101>

- Schauer M, Balagué V, Pedrós-Alió C, Massana R. Seasonal changes in the taxonomic composition of bacterioplankton in a oligotrophic coastal system. *Aquat Microb Ecol.* 2003; 31: 163–174.
- Schindler D.W. (1974). Eutrophication and Recovery in experimental Lakes: Implication for Lake Management. *Science, New Series, Vol 184, N° 4139*, pp.897-899.
- Sciuto, K., & Moro, I. (2015). Cyanobacteria: the bright and dark sides of a charming group. *Biodiversity and Conservation*, 24(4), 711–738.
<https://doi.org/10.1007/s10531-015-0898-4>
- Seltzer, P. (1946). Le climat de l'algerie. *Trav.Inst.Météo. Et Phys . Du globe. La Typolitho et J.C. in 4ème*, Alger, 219 p.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. *The Mathematical Theory of Communication.* University of Illinois Press, Illinois, USA, 125 p.
- Shao, K., Zhang, L., Wang, Y., Yao, X., Tang, X., Qin, B., & Gao, G. (2014). The responses of the taxa composition of particle-attached bacterial community to the decomposition of *Microcystis* blooms. *Science of the Total Environment*, 488–489(1), 236–242.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.101>
- Shi, L., Cai, Y., Kong, F., & Yu, Y. (2012). Specific association between bacteria and buoyant *Microcystis* colonies compared with other bulk bacterial communities in the eutrophic Lake Taihu, China. *Environmental Microbiology Reports*, 4(6), 669–678.
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12001>
- Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F., & Hajibabaei, M. (2012). Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular Ecology*, 21(8), 1794–1805.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05538.x>
- Simpson, C. and. (1996). Trophic State. In *A Coordinator's Guide to Volunteer Lake Monitoring Methods* (p. 96).
- Sitoki, L., Kurmayer, R., & Rott, E. (2012). Spatial variation of phytoplankton composition, biovolume, and resulting microcystin concentrations in the Nyanza Gulf (Lake Victoria, Kenya). *Hydrobiologia*, 691(1), 109–122.
<https://doi.org/10.1007/s10750-012-1062-8>
- Sivonen, K., Jones, G. (1999). Cyanobacterial toxins. In: Chorus, I., Bertram, J. (Eds.), *Toxic Cyanobacteria in Water.* E and FN Spon, London, pp. 41–111.
- Skowron, R. (2008). Criteria of thermal classifications of lakes. *Bulletin of Geography. Physical Geography Series*, 2(2), 89–105.
- Smayda, T.J. (1997). Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 42, 1137–1153.
- Sogin, M. L., Sogin, M. L., Morrison, H. G., Morrison, H. G., Huber, J. a., Herndl, G. J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored 'rare biosphere'. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(32), 12115–20.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.0605127103>
- Stefanelli, M., Scardala, S., Cabras, P. A., Orrù, A., Vichi, S., Testai, E., ... Manganelli, M. (2017). Cyanobacterial dynamics and toxins concentrations in Lake Alto Flumendosa, Sardinia, Italy. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1). <https://doi.org/10.4081/aiol.2017.6352>
- Tadonlélé, R.D. (2010) Evidence of warming effects on phytoplankton productivity rates and their dependence on eutrophication status. *Limnology and Oceanography*, 55, 973.
- Tan B., Ng C., Nshimiyimana, J.P., Loh, L.L., Gin KYH, Thompson J.R. (2015). Next-generation sequencing (NGS) for assessment of microbial water quality: Current progress, challenges, and future opportunities. *Front Microbiol.* 6, 1027. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01027>
- Tang, X., Gao, G., Qin, B., Zhu, L., Chao, J., Wang, J., & Yang, G. (2009). Characterization of bacterial communities associated with organic aggregates in a large, shallow, eutrophic freshwater Lake (Lake Taihu, China). *Microbial Ecology*, 58(2), 307–322. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9482-8>
- Taranu, Z. E., Zurawell, R. W., Pick, F., & Gregory-Eaves, I. (2012). Predicting cyanobacterial dynamics in the face of global change: the importance of scale and environmental context. *Global Change Biology*, 18(12), 3477–3490. <https://doi.org/10.1111/gcb.12015>
- Thomas, R., Meybeck, M., And, & Beim, A. (1996). Lakes. In *Water quality assessments - A guide to use Biota, Sediments and water in Environmental Monitoring* (Vol. 5, pp. 1–46).
- Thornton, J.A., (1996). Aspects of eutrophication management in tropical/sub-tropical regions: A review. *J. Limnol. Soc. S. Afr.* 13, 25–43.
- Tillett, D., Dittmann, E., Erhard, M., Von Döhren, H., Börner, T., Neilan, B.A. (2000). Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chem. Biol.* 7(10), 753-764.
- Torres, C. A., Lüring, M., & Marinho, M. M. (2016). Assessment of the Effects of Light Availability on Growth and Competition Between Strains of *Planktothrix agardhii* and *Microcystis aeruginosa*. *Microbial Ecology*, 71(4), 802–813. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0719-z>
- Travers M. (1964). Diversité du microplancton du Golf de Marseille. Station Marine d'Endoume et Centre d'Océanographie, Marseille, France : 308-343.
- Tsuchiya, C., Sakata, T., & Sugita, H. (2008). Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish. *Letters in Applied Microbiology*, 46(1), 43–48. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02258.x>
- Van Apeldoorn, M.E., van Egmond, H.P., Speijers, G.J.A., Bakker, G.J.I., 2007. Toxins of cyanobacteria. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 7–60.

- Van Wichelen J., Vanormelingen P., Codd G.A., Vyverman W. (2016). The common bloom-forming Cyanobacterium *Microcystis* is prone to a wide array of microbial antagonists. *Harmful Algae*, 55, 97–111.
- Vardi, A., Schatz, D., Beerli, K., Motro, U., Sukenik, A., Levine, A. (2002). Dinoflagellate-cyanobacterium communication may determine the composition of phyto-plankton assemblage in a mesotrophic lake. *Curr. Biol.* 12, 1767–1772.
- Vareli, K., Briasoulis, E., Pilidis, G., & Sainis, I. (2009). Molecular confirmation of *Planktothrix rubescens* as the cause of intense, microcystin—Synthesizing cyanobacterial bloom in Lake Ziros, Greece. *Harmful Algae*, 8(3), 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.09.005>
- Vasconcelos, V.M., 1995. Uptake and depuration of the heptapeptide toxin microcystin-LR in *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.* 32, 227–237.
- Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The Variability of the 16S rRNA Gene in Bacterial Genomes and Its Consequences for Bacterial Community Analyses. *PLoS ONE*, 8(2), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
- Via-Ordorika, L., Fastner, J., Kurmayer, R., Hisbergues, M., Dittmann, E., Komarek, J., ... Chorus, I. (2004). Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(5), 592–602. <https://doi.org/10.1078/0723202041748163>
- Vivier, P. (1934). Les principes de la limnologie. In *Bulletin Français de Pisciculture* (pp. 212–223). <https://doi.org/10.1051/kmae:1934029>
- Wacklin, P. (2006). Biodiversity and Phylogeny of Planktic Cyanobacteria in Temperate Freshwater Lakes.
- Wang, Y., & CHEN, F. (2008). Decomposition and phosphorus release from four different size fractions of *Microcystis* spp. taken from Lake Taihu, China. *Journal of Environmental Sciences*, 20(7), 891–896. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62143-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62143-9)
- Watson, S. B., Monis, P., Baker, P., & Giglio, S. (2016). Biochemistry and genetics of taste- and odor-producing cyanobacteria. *Harmful Algae*, 54, 112–127. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.11.008>
- WHO. (2003). Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/57).
- Winder M., Schindler D.E. (2004). Climate change uncouples trophic interactions in an aquatic ecosystem. *Ecology*, 85, 2100–2106.
- Woese CR & Fox GE (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 74, 5088-5090.
- Woodhouse, J. N., Kinsela, A. S., Collins, R. N., Bowling, L. C., Honeyman, G. L., Holliday, J. K., & Neilan, B. A. (2016). Microbial communities reflect temporal

- changes in cyanobacterial composition in a shallow ephemeral freshwater lake. *Isme J*, 10(6), 1337–1351. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.218>
- Worm, J., & Sondergaard, M. (1998). Dynamics of heterotrophic bacteria attached to *Microcystis* spp. (Cyanobacteria). *Aquatic Microbial Ecology*, 14(1), 19–28. <https://doi.org/10.3354/ame014019>
- Wu W, Li G, Li D, Liu Y. (2010). Temperature may be the dominating factor on the alternant succession of *Aphanizomenon flos-aquae* and *Microcystis aeruginosa* in Dianchi Lake. *Fresenius Environ Bull.*19(5), 846–853.
- Wu, X., Xi, W., Ye, W., & Yang, H. (2007). Bacterial community composition of a shallow hypertrophic freshwater lake in China, revealed by 16S rRNA gene sequences. *FEMS Microbiology Ecology*, 61, 85–96. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00326.x>
- Xing, P., Guo, L., Tian, W., & Wu, Q. L. (2011). Novel *Clostridium* populations involved in the anaerobic degradation of *Microcystis* blooms. *The ISME Journal*, 5(5), 792–800. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.176>
- Xu, Y., Wu, Z., Yu, B., Peng, X., Yu, G., Wei, Z., ... Li, R. (2008). Non-microcystin producing *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek (Cyanobacteria) representing a main waterbloom-forming species in Chinese waters. *Environmental Pollution*, 156(1), 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.12.027>
- Yamamoto, Y., & Nakahara, H. (2009). Seasonal variations in the morphology of bloom-forming cyanobacteria in a eutrophic pond. *Limnology*, 10(3), 185–193. <https://doi.org/10.1007/s10201-009-0270-z>
- Zhu, L., Zancarini, A., Louati, I., De Cesare, S., Duval, C., Tambosco, K., Humbert, J-F. (2016). Bacterial Communities Associated with Four Cyanobacterial Genera Display Structural and Functional Differences: Evidence from an Experimental Approach. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01662>