



Les Particules d'Exopolymères Transparentes (Transparent Exopolymer Particles, TEP) en milieu pélagique lacustre : relation avec le phytoplancton et rôle dans les réseaux trophiques microbiens

Mohamad-Bashir Arnous

► **To cite this version:**

Mohamad-Bashir Arnous. Les Particules d'Exopolymères Transparentes (Transparent Exopolymer Particles, TEP) en milieu pélagique lacustre : relation avec le phytoplancton et rôle dans les réseaux trophiques microbiens. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2010. Français. <NNT : 2010CLF22066>. <tel-00629661>

HAL Id: tel-00629661

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00629661>

Submitted on 6 Oct 2011

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

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



Année 2010

Thèse de Doctorat de l'Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II

Spécialité : Biologie des Populations et des Ecosystèmes

Ecole Doctorale : Sciences de la Vie et de la Santé

Présentée par **Mohamad Bashir Arnous**

En vue d'obtenir le grade de *Docteur d'Université*

**Les Particules d'Exopolymères Transparentes (Transparent
Exopolymer Particles : TEP) en milieu pélagique lacustre –
Relation avec le phytoplancton et rôle dans les réseaux
trophiques microbiens**

Soutenue le 16 novembre 2010, devant le jury composé de :

J. R. Dolan	Directeur de Recherche CNRS, Université Paris VI	Rapporteur
I. Domaizon	Chargé de recherche INRA Thonon les Bains	Rapporteur
C. Amblard	Directeur de Recherche CNRS, Université Blaise Pascal	Examineur
M. L. Pedrotti	Chargé de recherche CNRS, Université Paris VI	Examinatrice
C. Quiblier	Maître de conférences, Université Paris VII	Examinatrice
J-F. Carrias	Professeur, Université Blaise Pascal	Directeur de Thèse

LMGE/UMR CNRS 6023/Université Blaise Pascal

Diversité Spécifique et Fonctionnelle des Réseaux Trophiques Aquatiques

24, av. des Landais –Bât. Biologie A – 63173 Aubière Cedex

«Si tu veux vivre heureux dans la vie d'ici-bas, il faut acquérir le savoir. Si tu aspiras au bonheur éternel dans l'au-delà, il faut aussi acquérir le savoir. Si tu cherches le bonheur durant les deux vies, tu dois acquérir le savoir » (Imam Al-châfi'î: 766-820 apr. J.-C.)

Remerciements

Une page va bientôt se tourner, cette aventure s'achève en ne laissant derrière elle que de merveilleux souvenirs de la France (merci Clermont-Ferrand et merci la France).

Après mon arrivée à Clermont-Ferrand en septembre 2004, le premier enseignant qui m'a accueilli, en master 1, fut Jean-François Carrias, mon futur directeur de thèse. Je n'oublierai jamais cette première rencontre, très humaine, quand il m'a accompagné à l'amphi 1 pour assister à mon premier cours de génétique. En m'offrant le stage de TER, il m'a permis d'entrer au laboratoire de biologie des protistes dans lequel j'ai passé 6 ans. Evidemment, l'histoire ne s'arrête pas là puisqu'il m'a accompagné pendant le master 2 et également pendant toute la thèse. Je tiens à le remercier pour son soutien, sa disponibilité, sa gentillesse, sa culture scientifique, ses corrections linguistiques et pour la confiance et la liberté qu'il m'a accordé durant ces années.

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement", UMR CNRS 6023, dirigé par Christian Amblard que je remercie pour son accueil et la disponibilité dont il a fait preuve tout au long de ce travail.

Mon séjour en France a pu être mené à bien grâce au soutien financier du ministère de l'enseignement supérieur de la république arabe syrienne, auquel je souhaite exprimer mes remerciements pour la bourse d'étude dont j'ai bénéficié pendant six ans.

Toute ma gratitude s'adresse à John R. Dolan et Isabelle Domaizon qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse et à Catherine Quiblier, Maria-Luiza Pedroti et Christian Amblard pour avoir accepté de juger ce travail.

Je souhaite aussi remercier chaleureusement tous les membres du laboratoire qui ont participé de près ou de loin à ce travail: Denis Sargos, Lionel Jouve, Jean-Claude Demeure et Jean-Claude Romagoux, Antoine Thouvenot, Christophe Portelli et Jonathan Colombet.

Je tiens également à remercier l'ensemble de l'équipe d'accueil, plus particulièrement Gérard Fonty, Téléphore-Sime Ngando, Christian Desvilettes, Mari Charpin, Delphine Latour et Didier Debroas pour leur gentillesse et leur encouragement aussi que les qui m'ont aidé au cours de ces années plus particulièrement: Anne-Catherine, Anne-Hélène, Cécile, Serena, Aurélie, Marlène, Guillaume, Olivier, Jérémy et les autres.

Un remerciement aussi pour les copains de France de toutes les nationalités et en particulier pour l'original Omar Kanj qui a été un vrai frère pour moi pendant ces années.

Merci aussi à toute ma famille (ma mère et mes frères et sœurs), à ma belle famille notamment mon beau père dr. Ali et ma belle mère et également à mon bébé Abd-Allah qui a changé ma vie.

Finalement j'adresse un grand merci à mon épouse Weaam qui a toujours été présente lorsque j'en ai eu besoin, qui m'a permis de me ressourcer « au vert » à chaque retour à la maison et qui a fait preuve de beaucoup de patience devant les changements d'humeur occasionnés par ce travail.

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique p4

1. LES PARTICULES ORGANIQUES DETRITIQUES	6
1.1. Les agrégats macroscopiques (= Macroagrégats).....	6
1.2. Les agrégats microscopiques (= Microagrégats).....	8
1.2.1. <i>Les particules colorées au bleu de Coomassie</i>	8
1.2.2. <i>Les Particules Jaune au DAPI</i>	9
1.2.3. <i>Les Particules d'Exopolymères Transparentes</i>	9
2. LES PARTICULES D'EXOPOLYMERES TRANSPARENTES (TEP).....	11
2.1. Introduction.....	11
2.2. Origine et formation des TEP	12
2.2.1. <i>Mécanismes de formation</i>	12
2.2.2. <i>Origines des TEP et de leurs précurseurs</i>	14
2.3. Abondance et distribution des TEP	15
2.4. Principales caractéristiques des TEP	16
2.4.1. <i>Composition chimique</i>	16
2.4.2. <i>Caractéristiques physiques</i>	17
2.4.3. <i>Distribution en taille des TEP</i>	17
2.5. Colonisation par les microorganismes	18
2.5.1. <i>Les TEP : un habitat privilégié</i>	18
2.5.2. <i>Colonisation bactérienne</i>	19
2.6. Formation d'agrégats et agrégation du phytoplancton.....	19
2.7. Impact sur le réseau trophique	21
2.8. Les TEP et le cycle du carbone	22
2.9. Les TEP et la formation de biofilm	23

Chapitre II : Matériel et méthodes p24

1. PRESENTATION DES SITES D'ETUDE.....	26
1.1. Le lac Pavin.....	26
1.2. Retenue de Grangent.....	26
1.3. Le lac de Créteil.....	27
1.3.1. <i>Présentation du lac</i>	27
1.3.2. <i>Mésocosmes et protocole expérimental</i>	29
2. PARAMETRES ABIOTIQUES ET BIOTIQUES	32
2.1. Paramètres physico-chimiques.....	32
2.2. Concentration en chlorophylle <i>a</i>	32
3. DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES	32
3.1. Dénombrement des bactéries	32
3.2. Dénombrement des protistes nanoflagellés hétérotrophes.....	33
3.3. Protistes ciliés	34
3.4. Dénombrement cellulaire du phytoplancton	35
3.5. Dénombrement de zooplancton.....	35
4. LES PARTICULES ORGANIQUES DETRITIQUES DE NATURE POLYSACCHARIDIQUE (TEP)	36
4.1. Préparation du colorant.....	36
4.2. Dénombrement microscopique des TEP	37
4.3. Détermination colorimétrique (Dosage) des TEP	37
4.4. Distribution en taille des TEP	38
4.5. Colonisation bactérienne des TEP	39
5. MESURE DU TAUX DE SEDIMENTATION	40
6. SYNTHESE DES ETUDES ET ANALYSE STATISTIQUES	42

Chapitre III: Importance des Particules Transparentes d'Exopolymères (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin p43

Préambule	45
The significance of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates (HNF) in Lake Pavin	46
1. Abstract	46
2. Introduction	47
3. Material and Methods	48
3.1. Study site and sampling.....	48
3.2. Phytoplankton analysis.....	49
3.3. Enumeration of nanoflagellates and total bacteria	49
3.4. TEP analysis and bacterial colonization.....	50
3.5. Statistical analysis.....	51
4. Results and Discussion	51
4.1. Environmental conditions.....	51
4.2. TEP distribution and bacterial colonization.....	52
4.3. HNF distribution and relationship with bacteria and TEP	56
5. Acknowledgements	59
6. References	59

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent	p63
--	------------

Préambule.....	65
Seasonal distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in two lakes with different trophic status	66
1. Abstract.....	66
2.Introduction	67
3.Material and methods.....	69
3.2. Phytoplankton analysis.....	69
3.3. Total bacteria count.....	70
3.4. Determination of TEP	70
3.5. Statistical analyses.....	72
4.Results.....	72
4.1. Ambient environmental conditions.....	72
4.2. Differences in biological parameters and TEP characteristics between the lakes....	73
4.3. Seasonal evolution of TEP, phytoplankton, and bacteria.....	75
5.Discussion.....	77
6.Acknowledgments.....	81
7.References	81

Chapitre V : Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique p87

1. Objectifs et présentation de l'étude.....	89
2. Résultats.....	89
2.1. Conditions environnementales.....	89
2.1.1. <i>Température</i>	89
2.1.2. <i>Oxygène dissous</i>	89
2.2. Structure du réseau trophique pélagique.....	90
2.2.1. <i>Zooplancton</i>	90
2.2.2. <i>Chlorophylle a</i>	91
2.2.3. <i>Biomasse et composition spécifique du phytoplancton</i>	91
2.2.4. <i>Bactéries, protistes flagellés hétérotrophes et ciliés</i>	93
2.3. Distribution des TEP.....	96
2.3.1. <i>Évolution saisonnière des TEP avec les communautés phytoplanctoniques</i>	96
2.3.2. <i>Distribution en taille et colonisation des TEP</i>	97
2.4. Taux de sédimentation de la matière organique.....	98
2.5. Relations entre les TEP, les variables biologiques, et le taux de sédimentation... 98	98
3. Discussion.....	100
3.1. Impact des poissons sur la structure du réseau trophique.....	100
3.1.1. <i>Zooplancton</i>	101
3.1.2. <i>Phytoplancton</i>	102
3.1.3. <i>Bactéries et protozoaires</i>	102
3.2. Impact des traitements sur les TEP.....	104
3.2.1. <i>Relations entre les TEP et le plancton</i>	104
3.2.2. <i>Distribution en taille des TEP</i>	109
3.2.3. <i>Relations entre les TEP et le taux de sédimentation</i>	110

Chapitre VI : Discussion générale et perspectives

p113

Références bibliographiques

122

Liste des abréviations

ANOVA	Analyse de variance
Chl α	Chlorophylle α
CID	Carbone inorganique dissous
COD	Carbone organique dissous
CSP	Particules colorées au bleu de Coomassie (Coomassie Stained Particles)
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DYP	Les particules jaunes au DAPI (DAPI Yellow Particles)
EPS	Substances de polymères extracellulaires
ESD	Diamètre sphérique équivalent
HNF	Nanoflagellés hétérotrophes
MOD	Matière organique dissoute
MOP	Matière organique particulaire
TEP	Particules d'Exopolymères Transparentes (Transparent Exopolymer Particles)

Introduction générale

La compréhension du fonctionnement des écosystèmes est un enjeu majeur en écologie aquatique. Les recherches effectuées au cours des 3 dernières décennies ont changé notre vue des flux de matière et d'énergie au sein des écosystèmes aquatiques. Avant les années 70, les flux de matière et d'énergie étaient représentés selon le concept de la chaîne alimentaire classique considérée comme simple et linéaire (phytoplancton → zooplancton métazoaire → poissons) (Ex. Ryther 1969). Cette chaîne alimentaire basée sur le broutage (« Grazing food chain ») considère que l'essentiel de la production primaire persiste sous forme particulaire. Il y a moins de trente ans, le concept de la chaîne alimentaire a été élargi et enrichi avec la mise en évidence du rôle des micro-organismes dans le cycle du carbone. En effet, une fraction importante du carbone fixé par le phytoplancton dans la zone euphotique des systèmes aquatiques est exsudée sous forme de matière organique dissoute (MOD) et recyclée via la boucle microbienne par les bactéries, les virus et les protozoaires (Matière organique dissoute → bactéries hétérotrophes → protistes hétérotrophes (Flagellés + Ciliés) → métazooplancton) (Azam *et al.* 1983, 1994), ce qui intègre les organismes de petite taille (<5 µm) dans le cycle du carbone. Cole *et al.* (1988) ont considéré qu'environ la moitié de la production primaire océanique est transférée vers le compartiment microbien. Ce concept, essentiellement basé sur la production primaire et les microorganismes pico- et nanoplanctoniques, considère un « réseau trophique microbien » et les flux de matière et d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs (Rassoulzadegan 1993).

La MOD, incluant le COD (carbone organique dissous), est un élément essentiel dans le flux du carbone puisqu'elle constitue le plus grand pool de carbone organique dans les océans (Farrington 1992). Le COD est formé principalement par des polysaccharides (Benner *et al.* 1992, Ogawa et Ogura 1992, Kepkay 2000) qui dominent dans la fraction colloïdale à cause de leur poids moléculaire élevé (Passow 2002). De nombreux organismes aquatiques, incluant le phytoplancton et les bactéries, produisent de grandes quantités de polysaccharides extracellulaires ou substance exopolymériques (ExoPolymeric Substances : EPS) (Hoagland *et al.* 1993, Mykkestad 1995, Stoderreger et Herndl 1999) qui sont capables de s'agréger abiotiquement et spontanément par coagulation pour former des particules organiques détritiques de nature polysaccharidiques ou TEP (=Transparent Exopolymer Particles) (Passow 2002). Les TEP sont un lieu d'une intense activité microbienne (Hot spot) associant les bactéries, les flagellés et les ciliés, et leur taille est suffisamment importante

pour constituer sans doute une source de nourriture potentielle pour le zooplancton (Passow 2002). Ces particules de structure gélatineuse permettent l'agrégation du phytoplancton (essentiellement les efflorescences des diatomées) qui accélère le processus de sédimentation et l'exportation du carbone de la surface vers les profondeurs (Logan *et al.* 1994, Passow *et al.* 1995). Cette nouvelle voie de transfert du carbone a été nommée « réseau basé sur l'agrégation » (« aggregation web », Passow 2002). Le réseau d'agrégation résume la dynamique des TEP et leurs interactions complexes avec les organismes et joue un rôle central dans la formation de particules à partir de carbone organique dissous et dans la sédimentation des matières organiques. Il influence aussi la structure du réseau trophique, car les TEP, de par la condensation des éléments carbonés dissous et des particules submicroscopiques en petits agrégats, rendent cette source de carbone disponible pour les consommateurs de grande taille, reliant ainsi les réseaux trophiques microbiens et classique (Passow 2002) (Fig. 1). La découverte des TEP et leur rôle dans l'agrégation des particules ont permis d'améliorer notre compréhension du cycle biogéochimique du carbone dans les océans.

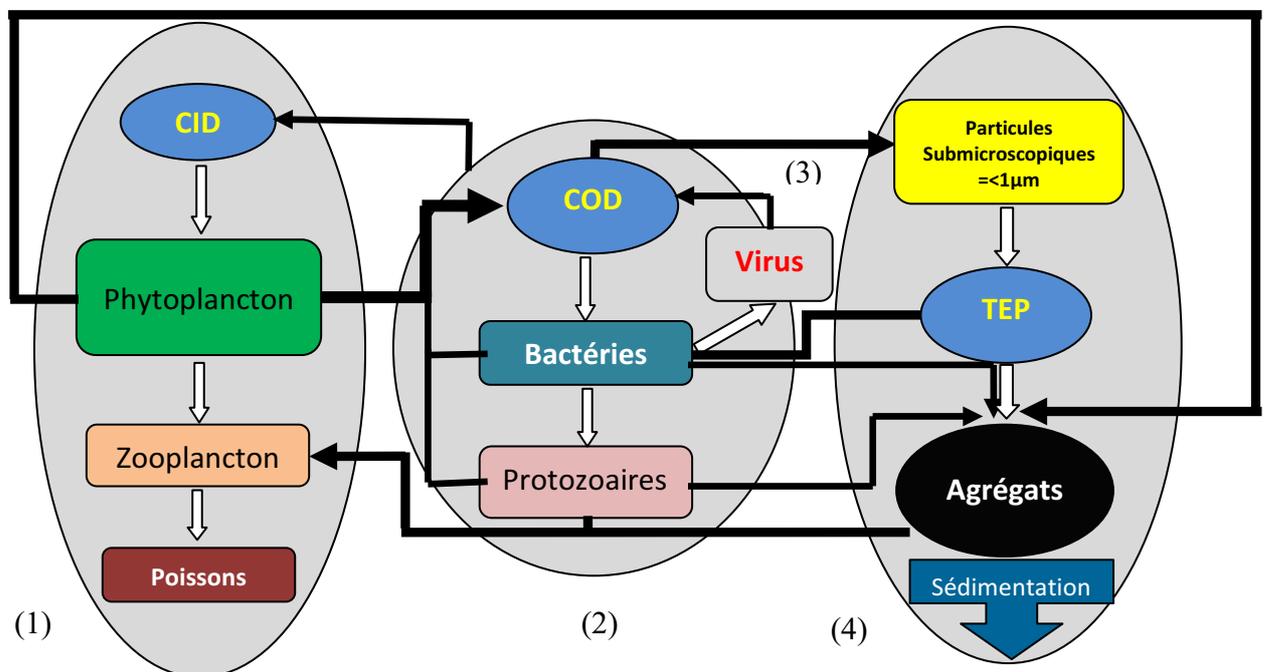


Figure 1. Le réseau trophique pélagique incluant la chaîne alimentaire classique (1), la boucle microbienne (2), la boucle virale (3) et le réseau d'agrégation (3) (Carrias 2004, modifié à partir de Passow 2002).

Nos connaissances sur les TEP lacustres restent très parcellaires car très peu de travaux les ont considérées. Dans ce contexte, l'objectif principal de ce travail de thèse a été d'améliorer nos connaissances sur les Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) en milieu pélagique lacustre. Nos travaux se sont essentiellement focalisés sur la distribution de ces particules en milieu naturel et sur leur relation avec le phytoplancton et les protozoaires afin de mieux comprendre leur importance au sein des réseaux trophiques microbiens et leur implications dans le cycle du carbone.

Ce manuscrit est divisé en six chapitres. Le premier chapitre illustre le contexte bibliographique dans lequel s'inscrit ce travail. Des précisions sur les particules organiques détritiques et leurs différents types seront apportées avant d'aborder l'origine, la formation, la distribution, les propriétés et la colonisation des TEP et leur rôle dans la formation d'agrégats et leur impact sur le réseau trophique. Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des sites d'études et des méthodes de prélèvements et d'analyses. Les résultats que nous avons obtenus seront exposés en trois chapitres. Le troisième chapitre sous forme d'un article publié, est consacré à l'étude de l'importance des TEP dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) au lac Pavin pendant la période printanière. Afin de mieux comprendre comment et pourquoi les TEP diffèrent en abondance, en concentration et en taille en fonction du niveau trophique des milieux et des changements saisonniers du phytoplancton, il s'avère indispensable de réaliser un suivi à long terme de ces particules, en milieu naturel. Ainsi, le quatrième chapitre, sous forme d'un article soumis, analyse la distribution annuelle des TEP, du phytoplancton et des bactéries dans deux lacs de niveaux trophiques différents : le lac Pavin, oligo-mésotrophe et le réservoir hypereutrophe de Grangent. Une expérience en milieu semi- contrôlé (enclos limniques installés sur le lac de Créteil) fait l'objet d'un cinquième chapitre. Cette étude a testé l'effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique. Les ratios stœchiométriques du zooplancton, du seston, et de la matière sédimentée ont été également considérés dans ce projet mais ne sont pas présentés dans le cadre de cette thèse. Enfin, dans le sixième et dernier chapitre, une synthèse des principaux enseignements issus de nos résultats et les perspectives qui s'en dégagent sont proposées.

Chapitre : I

Synthèse bibliographique

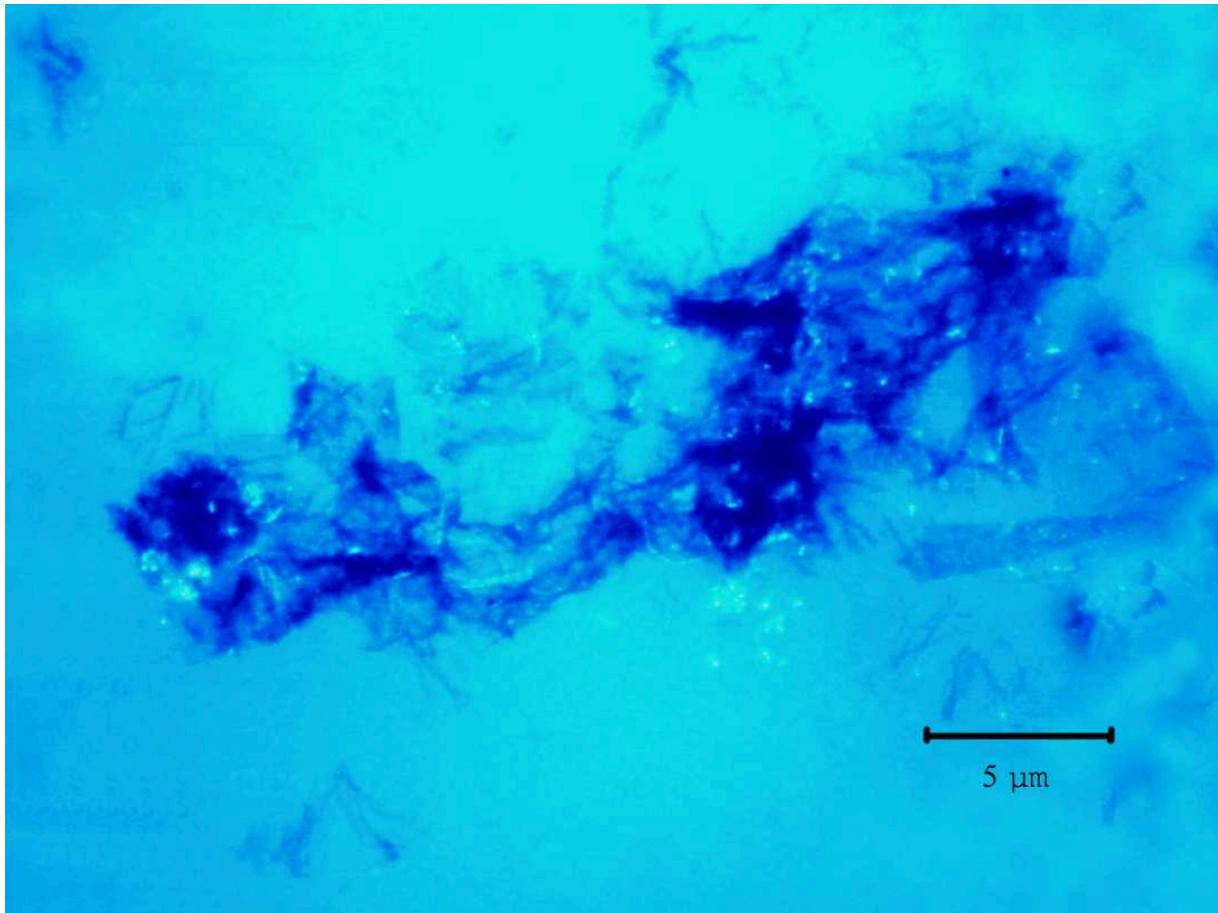


Photo d'une particule d'exopolymère transparente « TEP » (photographies d'après M.B. Arnous)

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. LES PARTICULES ORGANIQUES DETRITIQUES	6
1.1. Les agrégats macroscopiques (= Macroagrégats).....	6
1.2. Les agrégats microscopiques (= Microagrégats).....	8
1.2.1. Les particules colorées au bleu de Coomassie.....	8
1.2.2. Les Particules Jaune au DAPI.....	9
1.2.3. Les Particules d'Exopolymères Transparentes.....	9
2. LES PARTICULES D'EXOPOLYMERES TRANSPARENTES (TEP).....	11
2.1. Introduction.....	11
2.2. Origine et formation des TEP	12
2.2.1. Mécanismes de formation.....	12
2.2.2. Origines des TEP et de leurs précurseurs.....	14
2.3. Abondance et distribution des TEP	16
2.4. Principales caractéristiques des TEP	17
2.4.1. Composition chimique.....	17
2.4.2. Caractéristiques physiques.....	17
2.4.3. Distribution en taille des TEP.....	18
2.5. Colonisation par les microorganismes	18
2.5.1. Les TEP : un habitat privilégié.....	18
2.5.2. Colonisation bactérienne.....	19
2.6. Formation d'agrégats et agrégation du phytoplancton.....	20
2.7. Impact sur le réseau trophique	21
2.8. Les TEP et le cycle du carbone	22
2.9. Les TEP et la formation de biofilm	23

1. Les particules organiques détritiques

En écologie aquatique, l'étude de la matière organique particulaire (MOP) implique de s'intéresser aux voies par lesquelles elle est produite, transférée au sein du réseau trophique, transportée de la colonne d'eau vers les sédiments et décomposée et minéralisée par les microbes (Simon *et al.* 2002). En général, dans les écosystèmes pélagiques le processus le plus important de la formation de la MOP est la fixation photoautotrophique du CO₂ sous forme de biomasse phytoplanctonique. Dans les zones côtières des lacs peu profonds et des rivières, les macrophytes, les macroalgues et les microalgues benthiques assurent cette fixation. Par conséquent, la MOP correspond à la biomasse vivante des producteurs primaires qui, par des processus divers et après transfert dans la chaîne alimentaire, se transformera en MOP morte (= détritique), forme qui domine le plus souvent la MOP totale dans les écosystèmes aquatiques. On considère que ces particules organiques détritiques, appelés aussi agrégats organiques (Simon *et al.* 1990) ou « biodétritus », comme étant l'ensemble de la matière organique morte colonisée par les bactéries (Alldredge *et al.* 1993). Cette matière organique particulaire se trouve dans tous les écosystèmes aquatiques marins et d'eau douce et, selon la taille de ces agrégats et les méthodes utilisées pour leur étude, les auteurs distinguent généralement deux grands types de particules, les micro- et macroagrégats, au sein desquels des distinctions peuvent être apportées en fonction notamment de la composition de cette matière organique.

1.1. Les agrégats macroscopiques (= Macroagrégats)

Les agrégats macroscopiques ont été découverts dans les années 1950 lors d'explorations sous-marines et nommés neige marine en raison de leur ressemblance avec des flocons de neige lorsqu'ils reflètent un faisceau lumineux subaquatique (Suzuki et Kato 1953). Ils ont été largement étudiés dans les écosystèmes marins (Fowler et Knauer 1986, Alldredge et Gotschalk 1990, Alldredge 1992, Herndl 1992, Ploug *et al.* 1999), mais aussi en milieu lacustre (Grossart et Simon 1993, Lampitt *et al.* 1993, Grossart *et al.* 1997), en rivière (Berger *et al.* 1996, Grossart et Ploug 2000, Neu 2000) et estuaire (Kerner et Krogmann 1994, Zimmermann 1997). La taille de ces particules varie entre 300 et 500 µm à plusieurs centimètres (Fig. 2) et leur abondance est généralement comprise entre <1 et ~ 100 particules L⁻¹ (Simon *et al.* 2002). Pour l'ensemble des écosystèmes aquatiques étudiés, on remarque que l'abondance des macroagrégats augmente significativement avec la biomasse

du phytoplancton (Alldredge et Gotschalk 1990). Par contre à une échelle temporelle et verticale pour un écosystème donné, les abondances maximales succèdent la phase de croissance du phytoplancton, notamment le maximum de concentration en chlorophylle *a*. Dans la plupart des études, les plus importantes densités saisonnières de ces particules sont enregistrées à la fin du bloom des diatomées que ce soit en milieu marin (Alldredge et Gotschalk 1989, Riebesell 1991, Lampitt *et al.* 1993, Kjørboe *et al.* 1994, Becquevort et Smith 2001) ou lacustre (Grossart *et al.* 1997, Grossart et Simon 1998).

Les macroagrégats peuvent être composés de particules très diversifiées telles que des algues vivantes sénescentes et mortes, principalement des diatomées, mais aussi de Coccolithophoridés, des kystes de dinoflagellés, des cyanobactéries filamenteuses, des phytodétritus, des frustules de diatomées, des bactéries, protozoaires, des débris, fourreaux et pelotes fécales de zooplancton, des détritits de macrophytes, et aussi des argiles et limons, de la calcite et diverses particules minérales présentes dans l'eau environnante (Alldredge et Silver 1988, Alldredge et Gotschalk 1990, Riebesell 1991, Herndl 1992, Kaltenböck et Herndl 1992, Grossart et Simon 1993, Lampitt *et al.* 1993, Zimmermann-Timm et Kausch 1996, Grossart *et al.* 1997, Alldredge *et al.* 1998, Kjørboe *et al.* 1998, Zimmermann-Timm *et al.* 1998). La composition et la qualité nutritive des macroagrégats influencent le taux de broutage des organismes filtreurs (Biddanda et Pomeroy 1988), ainsi que la reminéralisation bactérienne de la matière organique tout comme la transformation de la MOP en MOD (Azam et Cho 1987). Ces particules sont donc impliquées directement dans la régulation du flux vertical du carbone organique (Kjørboe 2001).

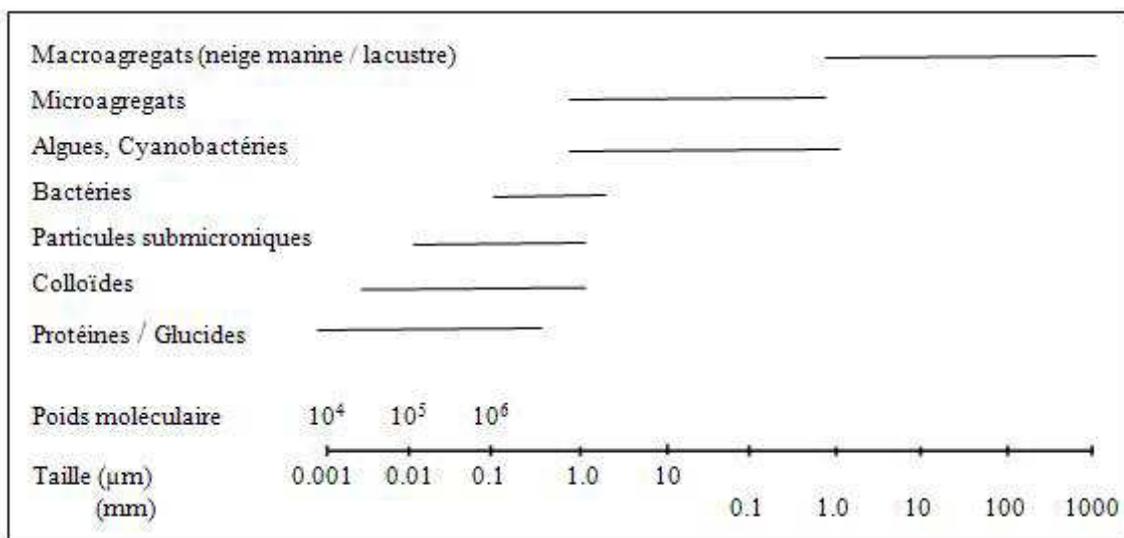


Figure 2. Spectres de taille des principaux composés organiques dissous et particulaires dans les écosystèmes aquatiques (D'après Simon *et al.* 2002).

1.2. Les agrégats microscopiques (= Microagrégats)

Les microagrégats apparaissent souvent assez similaires aux macroagrégats quand on les examine au microscope, même si leur composition n'est pas aussi variée. Ils présentent une taille inférieure à 300 µm de diamètre et leur abondance est plus élevée de plusieurs ordres de grandeur que celle des macroagrégats (Tableau 1). Ils sont fortement colonisés par les bactéries et présentent souvent une distribution spatio-temporelle différente de celle des macroagrégats. Aussi, en raison de leur forte concentration, les microagrégats s'agglomèrent souvent entre eux et avec les macroagrégats, par simple collision. Ces caractéristiques soulignent que les microagrégats sont fortement impliqués dans les processus de dégradation et dans le cycle de la MOP et que leur rôle est sans doute variable en fonction du système donné, de la charge de matière en suspension et de la qualité de la matière organique (Simon *et al.* 2002). En raison de leur petite taille, l'analyse de leur composition et notamment de leur rapport C/N reste difficile à mettre en œuvre. Toutefois, l'utilisation de nouveaux colorants, spécifiques pour les différents biopolymères des agrégats organiques, a permis la détermination de leur composition et conduit à la découverte de nouvelles catégories de microparticules. Il est maintenant possible de distinguer trois groupes de particules selon les méthodes de coloration utilisées.

1.2.1. Les particules colorées au bleu de Coomassie

Les particules colorées au bleu de Coomassie ou « Coomassie Stained Particles (CSP)», constituent une classe de microagrégats contenant des protéines. Elles ont été découvertes par une coloration de l'eau de mer au bleu de Coomassie (nommé également « brillant blue »), un colorant spécifique des protéines (Long et Azam 1996). Leur forme est assez variable et leur taille varie de quelques micromètres à plus de 150 micromètres. Les abondances de ces particules en milieu pélagique sont de l'ordre de 10^5 à 10^7 particules L^{-1} (Tableau 1) et les valeurs diminuent avec la profondeur, ce qui suggère une relation positive avec le phytoplancton (Berman et Viner-Mozzini 2001, Carrias *et al.* 2002). Carrias *et al.* (2002) et Lemarchand *et al.* (2006) ont montré que ce type de particules est 10fois plus élevé que les autres particules de type TEP. D'après ces auteurs, le niveau trophique n'est pas un facteur essentiel de la distribution des CSP. On connaît peu de chose sur leur origine mais il est probable que divers mécanismes tels que la lyse cellulaire, la mort cellulaire ou l'adsorption de protéines sur des particules non-protéiques pourraient produire ce type de

particules (Long et Azam 1996). Elles pourraient être impliquées dans la formation de macroagrégats (Simon *et al.* 2002) mais le rôle et le devenir de ces particules ne sont pas connus et des travaux supplémentaires sont nécessaires pour mieux expliquer leur origine et leur importance en milieu pélagique.

1.2.2. Les Particules Jaune au DAPI

Les particules jaunes au DAPI ou «DAPI Yellow Particles (DYP)» correspondent à la matière organique vivante dépourvue d'ADN et colorées en jaune par une coloration au DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), colorant fluorescent spécifique de l'ADN (les bactéries colorées au DAPI apparaissent sous forme de petites taches bleues brillantes). Elles ont été décrites pour la première fois dans les eaux de la Méditerranée par Mostajir *et al.* (1995a). La taille de ces particules varie entre 0,2 et 20 μm , avec des abondances de l'ordre de 10^6 à 10^7 particules L^{-1} (Tableau 1). Les densités de ces particules sont liées aux concentrations en chlorophylle *a* et à la biomasse du phytoplancton (Brachvogel *et al.* 2001, Carrias *et al.* 2002). Leur origine pourrait être les détritiques provenant du phytoplancton, les particules rejetées par les protozoaires, ainsi que les particules provenant de l'agglomération de colloïdes à partir de carbone organique dissous (COD) (Mostajir *et al.* 1995b). Par conséquent, l'origine de ces particules et leur rôle dans l'agrégation de la MOP restent largement méconnus.

1.2.3. Les Particules d'Exopolymères Transparentes

Les particules d'Exopolymères Transparentes ou «Transparent Exopolymer Particles (TEP)» sont de nature polysaccharidique et ont été décrites par Alldredge *et al.* (1993). Elles sont présentes dans tous les milieux aquatiques et constituent une classe omniprésente de microparticules détritiques en milieu pélagique marin (Passow et Alldredge 1994, Logan *et al.* 1995, Schuster et Herndl 1995, Mari et Kiørboe 1996, Kiørboe *et al.* 1998, Mari et Burd 1998, Engel 2004, Prieto *et al.* 2006, Sugimoto *et al.* 2007) et lacustre (Grossart *et al.* 1997, 1998, Worm et Søndergaard 1998, Berman et Viner-Mozzini 2001, Brachvogel *et al.* 2001, Carrias *et al.* 2002, Arruda Fatibello *et al.* 2004, Arnous *et al.* 2010). Elles sont visualisées en microscopie par une technique simple de coloration au bleu d'Alcian (Alldredge *et al.* 1993, Logan *et al.* 1994). L'abondance des TEP varie de 10^2 à 10^7 particules L^{-1} (Tableau 1) et est souvent positivement corrélée à la biomasse du phytoplancton et aux concentrations en

chlorophylle α . La taille de ces particules varie de 2 à 100 μm avec une distribution qui peut changer très rapidement, en particulier lors de processus d'agrégation (Simon *et al.* 2002).

Ces particules polysaccharidiques sont considérées comme ayant un rôle essentiel dans la dynamique de la matière organique (Alldredge *et al.* 1993). Connaître leur origine, leurs principales caractéristiques et leur rôle dans les flux de carbone dans les écosystèmes aquatiques est donc indispensable.

Tableau 1. Abondances des particules organiques détritiques dans différents environnements aquatiques. Mac : macroagrégats ; CSP: particules colorées au bleu de Coomassie (Coomassie Stained Particles); DYP: Particules Jaune au DAPI (DAPI Yellow Particles); TEP : Particules d'Exopolymères Transparents (Transparent Exopolymer Particles).

Milieus aquatiques	Profondeur (m)	Densités des particules	Type	Références
Baie, sud Californie	7–15	<1–8	Mac.	Allredge (1979)
Golfe de Californie	7–15	<1–3.7	Mac.	Allredge (1979)
Atlantique Nord	7–15	0.1–1.0	Mac.	Allredge <i>et al.</i> (1986)
Baie, sud Californie	7–15	<20–79.4	Mac.	Graham <i>et al.</i> (2000)
Pacifique équatorial	0–80	10–55	Mac.	Walsh <i>et al.</i> (1997)
Pacifique équatorial	100–1000	12–15	Mac.	Walsh <i>et al.</i> (1997)
Côte de l'Atlantique	0–15	13.5–62.8	Mac.	Shanks et Del Carmen (1997)
Côte de la Pacifique	0–15	1–11	Mac.	Shanks et Del Carmen (1997)
Estuaire de l'Elbe	1	20–4000	Mac.	Zimmermann (1997)
Lac Constance	5–25	<1–50	Mac.	Grossart et Simon (1993)
Lac Constance	5–25	$0.5 \times 10^2 - 1.5 \times 10^6$	TEP	Grossart <i>et al.</i> (1997)
Lac Constance	6–100	$3.1 \times 10^5 - 1.5 \times 10^6$	(DYP)	Brachvogel <i>et al.</i> (2001)
Lac Constance	6–100	$7.1 \times 10^4 - 2.6 \times 10^6$	TEP	Brachvogel <i>et al.</i> (2001)
Lac de Tibériade	15–35	$1.0 \times 10^5 - 7.0 \times 10^6$	TEP	Grossart <i>et al.</i> (1998)
Lac de Tibériade	1–38	$4.4 \times 10^5 - 2.5 \times 10^7$	TEP	Berman et Viner-Mozzini (2001)
Lac de Tibériade	1–38	$1.4 \times 10^5 - 1.2 \times 10^7$	CSP	Berman et Viner-Mozzini (2001)
Baie, sud Californie	10	$2.8 \times 10^4 - 4.0 \times 10^5$	TEP	Allredge <i>et al.</i> (1993)
Baie, sud Californie	10	$2.5 \times 10^4 - 6.3 \times 10^5$	TEP	Passow et Allredge (1994)
Atlantique Subtropical	300–1400	$2.0 \times 10^3 - 6.0 \times 10^3$	TEP	Passow et Allredge (1994)
Kattegat (Mer du Nord / Mer Baltique)	0–25	$3.0 \times 10^5 - 6.0 \times 10^7$	TEP	Mari et Kiørboe (1996)
Kattegat (Mer du Nord / Mer Baltique)	0–30	$5.0 \times 10^7 - 3.8 \times 10^8$	TEP	Mari et Burd (1998)
Nord de l'Adriatique	0–15	$<1.0 \times 10^3 - 6.0 \times 10^5$	TEP	Schuster et Herndl (1995)
Méditerranée NW	0–40	$1.0 \times 10^7 - 2.2 \times 10^8$	TEP	Mari <i>et al.</i> (2001)
Méditerranée NW	0–75	$2.2 \pm 3.2 \times 10^6$	(DYP)	Mostajir <i>et al.</i> (1995a)
Baie, sud Californie	5	$2.0 \times 10^7 - 3.4 \times 10^7$	CSP	Long et Azam (1996)
Mer d'Arabe	0–1500	$2.0 \times 10^6 - 3.5 \times 10^7$	CSP	Long et Azam (1996)
Lac Pavin (France)	5–30	$4.3 - 33.8 \times 10^7$	DYP	Carrias <i>et al.</i> (2002)
Lac Pavin (France)	5–30	$0.3 - 7.6 \times 10^5$	TEP	Carrias <i>et al.</i> (2002)

Lac Pavin (France)	5-30	$0.4-3.6 \times 10^6$	CSP	Carrias <i>et al.</i> (2002)
Lac d'Aydat (France)	1-13	$0.4-3.3 \times 10^6$	CSP	Lemarchand <i>et al.</i> (2006)
Lac d'Aydat (France)	1-13	$8.6-41.2 \times 10^5$	TEP	Lemarchand <i>et al.</i> (2006)
Lac d'Aydat (France)	1-13	$11.8-77.5 \times 10^7$	DYP	Carrias <i>et al.</i> (2002)
Lac Pavin (France)	0.5-58	$1.9-13.4 \times 10^5$	TEP	Arnous <i>et al.</i> (2010)

2. Les Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP)

2.1. Introduction

Dans les écosystèmes aquatiques, les polysaccharides sont un élément important du carbone organique dissous (COD) (Benner *et al.* 1992, Ogawa et Ogura 1992, Kepkay 2000). En raison de leur poids moléculaire élevé, ils appartiennent principalement à la fraction colloïdale du COD. Beaucoup d'organismes aquatiques, dont le phytoplancton et les bactéries, produisent des grandes quantités de polysaccharides extracellulaires ou substances exopolymériques (ExoPolymeric Substances : EPS) (Hoagland *et al.* 1993, Costerton 1995, Myklesstad 1995). Les EPS contiennent également des protéines, des acides nucléiques, des phospholipides, et d'autres composés polymériques présents notamment dans les espaces intercellulaires des agrégats microbiens (Wingender *et al.* 1999). Elles forment une gelée biologique permettant le maintien des agrégats (Engel 2000) et elles peuvent également servir de précurseurs pour la production de TEP (Fig. 3) dont le rôle est décisif dans les processus d'agrégation (Passow *et al.* 1994, Passow 2002). Les TEP correspondent à une fraction particulière (Fig. 3), plutôt qu'à un gel entourant les cellules ou une fraction dissoute des EPS (Alldredge *et al.* 1993). Dans les écosystèmes pélagiques, les TEP diffèrent des autres formes d'EPS, car elles peuvent s'agréger pour former des agrégats plus grands et peuvent être récoltées par filtration, alors que les autres formes d'EPS sont sous forme dissoute (Passow 2002).

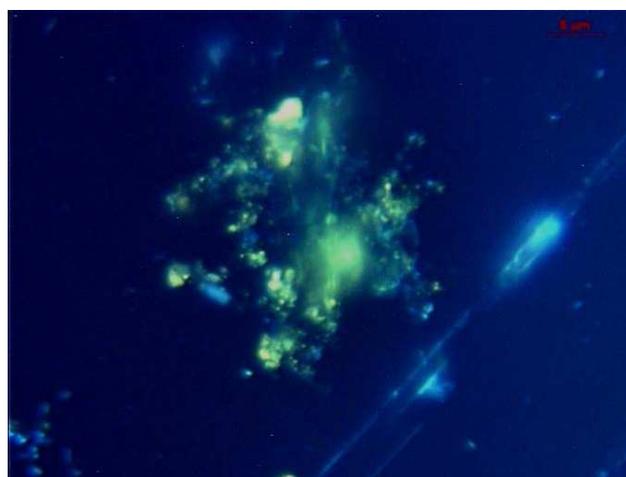
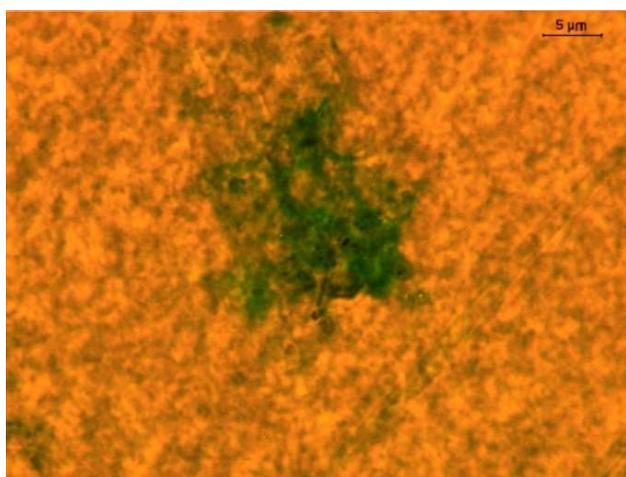


Figure 3. Photographies de TEP en microscopie. Une particule visible en lumière blanche après coloration au bleu d'Alcian (Photographie de gauche). La même particule sous lumière ultraviolette avec une double coloration au bleu d'Alcian et DAPI (Photographie de droite). Les points apparaissant bleus claires sont des bactéries attachées et les jaunes correspondent à de la matière organique. (Photographies d'après M-B Arnous).

Les TEP ont été définies comme des particules transparentes formées de polysaccharides et colorées par le bleu d'Alcian (Alldredge *et al.* 1993). Ces particules ont été découvertes et décrites il y a plus de trente ans (Gorden 1970, Wiebe et Pomeroy 1972, Emery *et al.* 1984) et il y a eu un débat sur leur importance potentielle dans les systèmes marins (Smetacek et Pollehne 1986). Les techniques pour leur visualisation et leur quantification n'étant pas alors disponibles, elles ont été longtemps ignorées, mais lorsqu'une méthode a été mise au point leurs fortes abondances ont été révélées dans tous les systèmes marins (Alldredge *et al.* 1993). Ensuite, les scientifiques ont pris conscience de leur rôle potentiellement important dans tous les systèmes aquatiques et ont alors porté une attention particulière à ces particules (Passow 2002).

Dans une première partie, l'origine, la formation, l'abondance, la distribution et les principales caractéristiques des TEP seront présentées. Ensuite, la colonisation par les microorganismes sera abordée et une discussion sur le rôle des TEP dans l'agrégation et leur impact sur le réseau trophique, le cycle du carbone et la formation de biofilm terminera cette revue bibliographique.

2.2. Origine et formation des TEP

2.2.1. Mécanismes de formation

Les études ont montré que les matières organiques dissoutes (MOD) sont à l'origine de la formation des TEP. Ces dernières ont donc différentes origines biotiques mais leur formation résulte le plus souvent de phénomènes abiotiques. Elles se forment spontanément à partir de substances dissoutes qui jouent le rôle de précurseurs (Passow 2002). Ces derniers contribuent considérablement au pool colloïdal de MOD dans les écosystèmes aquatiques et sont libérés par les organismes aquatiques. Ainsi les abondances et propriétés des TEP dépendent non seulement de la composition de la communauté pélagique et benthique, mais également du statut physiologique des organismes, qui est une fonction complexe de leur état de croissance (Passow 2002), alors que leur formation dépend de paramètres environnementaux (turbulence, densité d'ions et concentration en

colloïdes inorganiques) et des concentrations de différents précurseurs présents dans le milieu (Passow 2002).

Des hétéroagrégats se forment d'abord entre les fibrilles de polymères d'hydrates de carbones sécrétés sous forme dissoute par le phytoplancton, et des colloïdes compacts. Cela forme des agrégats submicroscopiques ou « micro-gels » (Zhou *et al.* 1998) (Fig. 4). Ces derniers s'assemblent spontanément pour former des réseaux de polymères assemblés dans les trois dimensions. La formation de tels gels est favorisée et stabilisée par des ponts cationiques, particulièrement des ponts calcium (Ca^{+2}) et hydrogène (Passow 2002). Pendant la phase exponentielle ou stationnaire de la croissance du phytoplancton, les cellules libèrent des précurseurs (Herndl 1992). Ces fibrilles sont également libérées par les bactéries (Stoderegger et Herndl 1998). Des substances intracellulaires sont aussi libérées pendant la période de sénescence des cellules et lors de la lyse viral ou de l'attaque des cellules par les bactéries. Toutes ces particules vont rejoindre le pool de MOD et former les TEP (Koike *et al.* 1990). Les TEP peuvent également se former à partir du mucus qui se détache des surfaces des cellules du phytoplancton (Kjørboe et Hansen 1993). Certaines diatomées et cyanobactéries présentent un mucus à l'extérieur des cellules qui est capable de former des TEP libres quand il est libéré, le plus souvent pendant le déclin d'une efflorescence (Grossart *et al.* 1997). La formation de TEP à partir de précurseurs fibrillaires montre l'existence d'un continuum de la matière organique depuis les formes dissoutes vers les formes particulières. Ce changement d'état n'est pas lié à l'activité microbienne mais à un processus abiotique spontané de formation de particules ou d'agrégation (Passow 2002).

Les TEP peuvent se former également quand des fractions de mucus se détachent de la surface cellulaire du phytoplancton (Kjørboe et Hansen 1993). Certaines diatomées et cyanobactéries excrètent du mucus colorable au bleu d'alcan sur leur surface cellulaire. Ce mucus peut alors se détacher et former des TEP, le plus souvent pendant le déclin du bloom (Schuster et Herndl 1995, Grossart *et al.* 1997, 1998). L'hydrolyse bactérienne du mucus à la surface des cellules de diatomées peut favoriser la formation de TEP (Smith *et al.* 1995) qui peuvent également être formées lors de la desquamation ou désintégration des grandes colonies de *Phaeocystis* au cours de la croissance et de la sénescence de cette algue (Passow et Wassmann 1994, Hong *et al.* 1997, Passow 2000, Mari *et al.* 2005).

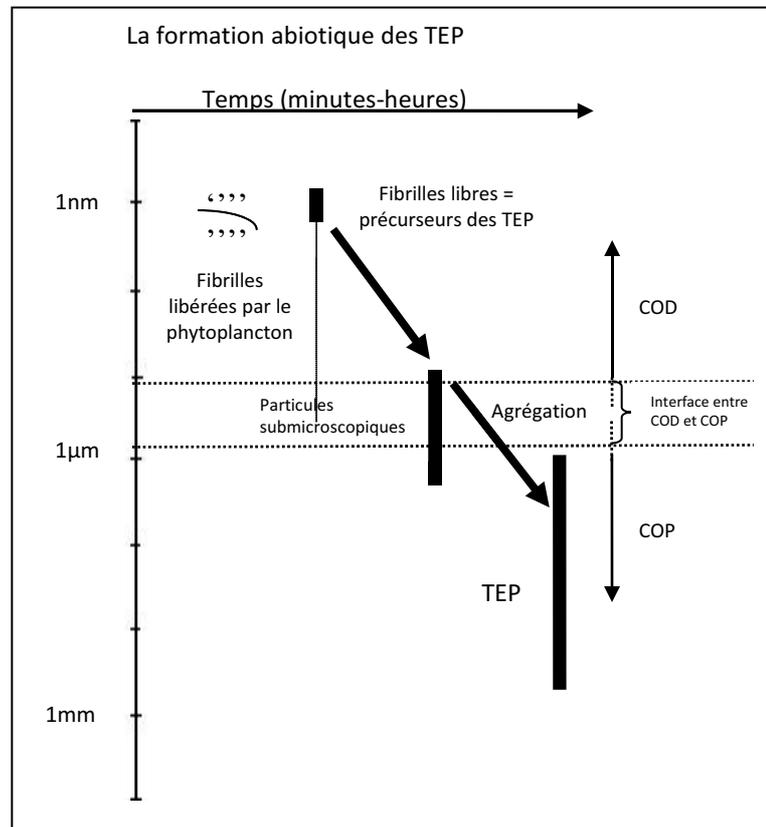


Figure 4. Modèle conceptuel de la formation abiotique des TEP à partir de leurs précurseurs. Les TEP et leurs précurseurs existent de façon permanente dans l'eau. Les précurseurs des TEP sont des fibrilles nanométriques qui forment d'abord des particules submicroscopiques par gélification, et éventuellement des TEP par agrégation (D'après Passow 2002 et Verdugo *et al.* 2004).

2.2.2. Origines des TEP et de leurs précurseurs

Les concentrations maximales en TEP sont habituellement associées aux efflorescences de phytoplancton, particulièrement les efflorescences dominées par des diatomées (Passow et Alldredge 1994, Passow *et al.* 1995, Mari et Kiørboe 1996, Grossart et Simon 1997, Mari et Burd 1998, Passow *et al.* 2001, Carrias *et al.* 2002, Arnous *et al.* 2010), mais aussi par les dinoflagellées (Passow et Alldredge 1994, Alldredge *et al.* 1998, Berman et Viner-Mozzini 2001) et les cyanobactéries (Grossart et Simon 1997, Grossart *et al.* 1998) et les

cryptophycées (Kozłowski et Vernet 1995, Passow *et al.* 1995). Les expériences de culture confirment que le phytoplancton est la source principale des TEP (Kjørboe et Hansen 1993, Passow et Alldredge 1994, Passow 2002).

Le bactérioplancton est également capable de favoriser les précurseurs de TEP. En effet, l'hydrolyse enzymatique bactérienne du mucus à la surface des cellules de diatomées peut augmenter la formation de TEP libres (Long et Azam 1996). Bien que les bactéries produisent de grandes quantités de TEP en culture, cette production semble souvent être insignifiante en milieu naturel, et généralement aucun rapport n'a été observé entre l'abondance bactérienne et celle des TEP. La majorité des produits bactériens appelés EPS (substances exopolymériques) forment des assemblages ou des biofilms de bactéries plus que des particules libres (Passow 2002). Cependant les bactéries ont un rôle nettement plus important dans la formation directe de gel par une sécrétion de molécules précurseur des TEP. Ainsi, les bactéries ont une activité clé dans la formation de biodétritus, notamment dans les lacs (Grossart et Simon 1997). La formation des TEP par les bactéries varie avec la composition des espèces, les conditions environnementales et l'activité bactérienne (Passow 2002). Les microorganismes semblent être les producteurs principaux des TEP dans l'océan, mais il y a d'autres organismes qui produisent des matières mucoïdiques, pouvant former des TEP. Ainsi des TEP sont produites en abondance par les macroalgues et le zooplancton, notamment les copépodes et les euphausiacés (Passow 2002). La libération des TEP par les micro-organismes est dépendante de l'espèce, de sa physiologie et des conditions environnementales de croissance (Williams 1990, Obernosterer et Herndl 1995, Staats *et al.* 2000). Les TEP produites par le phytoplancton dépendent de la lumière, de la concentration en dioxyde de carbone, des taux de croissance du phytoplancton ainsi que des éléments nutritifs et des facteurs physiques tels que le régime de turbulence (Dam et Drapeau 1995). Les TEP produites par les macroalgues dépendent de la température, de la lumière et de l'âge de l'algue (Ramaiah *et al.* 2001). Les concentrations en TEP et en chlorophylle *a* sont significativement corrélées pendant la croissance exponentielle des efflorescences du phytoplancton ou dans des lots de culture (Passow 2002). Généralement, à la fin de la phase de croissance, la relation entre TEP et chlorophylle *a* disparaît, car les concentrations en particules continuent d'augmenter en raison de la lyse des cellules ou de la prédation, alors que les concentrations en chl *a* déclinent (Passow 2002).

2.3. Abondance et distribution des TEP

L'abondance des TEP est souvent importante dans la plupart des milieux pélagiques. Cette abondance peut-être exprimée par le nombre total de particules par litre avec des valeurs fluctuant généralement de 10^4 à 10^8 particules par litre, par les concentrations en équivalent xanthane calculées par la méthode spectrophotométrique proposée par Passow et Alldredge (1995) (valeurs oscillant entre 20 et 11000 $\mu\text{g Xeq.l}^{-1}$) et par la superficie totale calculée à partir des abondances (surface variant de 0.2 à $> 2000 \text{ mm}^2 \text{ l}^{-1}$). A partir de la détermination microscopique de TEP et en supposant que les TEP sont des particules sphériques, la fraction volumique de TEP (volume total des TEP par volume d'eau) peut être estimée. Cette fraction varie entre 0,1 et plus de $300 \text{ mm}^3 \cdot \text{l}^{-1}$ (Passow 2002). L'abondance des TEP est très variable selon les milieux étudiés (Tableau 1) et les valeurs augmentent avec la productivité des écosystèmes. En milieu marin, les plus fortes concentrations sont observées pendant les périodes de bloom des diatomées dans les zones euphotiques en milieu côtier (Passow et Alldredge 1994, Engel et Passow 2001). De fortes concentrations sont également associées aux macroalgues (Ramaiah *et al.* 2001). En eau douce, les concentrations les plus élevées ont été enregistrées dans des lacs eutrophes (Berman et Viner-Mozzini 2001, Carrias *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2006). Il existe une relation hautement significative entre l'absorption de CO_2 par le phytoplancton et la production de TEP ce qui indique l'existence d'un couplage entre la prise de carbone inorganique par voie photosynthétique et l'exsudation de carbone organique (Engel 2002). La majorité des TEP présentes dans l'eau ont une taille comprises entre 5 et 15 μm . Les particules d'une taille supérieure à 20 μm sont en général 10 fois moins abondantes que les TEP de taille comprise entre 2 et 20 μm (Alldredge *et al.* 1998; Carrias *et al.* 2002). L'amplitude de variation pour un même milieu peut être très importante notamment dans les milieux où des efflorescences intenses apparaissent. La dynamique des TEP en milieu pélagique est dépendante des propriétés spécifiques de ces particules, telles que leur flexibilité, leur viscosité et leur rapport C/N. En raison de leur abondance élevée et des propriétés de ces particules, elles influencent fortement les processus chimiques et biologiques du milieu pélagique (Passow 2002).

2.4. Principales caractéristiques des TEP

2.4.1. Composition chimique

Les TEP sont un groupe hétérogène de particules qui sont chimiquement diversifiées. Ce sont des exopolymères, mais toutes les substances exopolymériques (EPS) ne produisent pas forcément des TEP. La composition chimique précise des TEP reste largement méconnue et dépend de l'espèce qui les produit et des conditions de croissance (Passow 2002).

Les TEP sont des particules colorées par le bleu d'alcan, qui est un colorant spécifique des polysaccharides. Elles disparaissent avec l'addition de la glucosidase, ce qui confirme qu'elles sont constituées principalement de sucres (Smith *et al.* 1995). Des analyses montrent qu'elles sont riches en fucose, rhamnose et arabinose, mais relativement pauvres en glucose, mannose et galactose et elles présentent des traces d'acides uroniques (R-COO⁻) (Mopper *et al.* 1995, Fukao *et al.* 2009). Les TEP sont également un site direct pour l'adsorption de nutriments comme les acides aminés, et de métaux traces, tels que le manganèse et le fer (Schuster *et al.* 1998, Beauvais 2003). Comme les TEP sont issues des produits d'excrétion du phytoplancton qui sont présents dans l'eau sous forme dissoute, la composition chimique des TEP varie selon les espèces et les conditions physiologiques, mais les sucres comme le fucose, le rhamnose et l'arabinose restent toujours prédominants (Passow 2002, Fukao *et al.* 2009).

2.4.2. Caractéristiques physiques

Les TEP sont des gels, qui se situent entre les matières organiques particulaires et dissoutes. Leurs caractéristiques physiques peuvent être décrites selon la théorie des gels de polymères (Passow 2002). En milieu marin, le réseau de polymères renferme de l'eau de mer et il est en équilibre thermo-dynamique avec l'eau environnante. Les gels peuvent subir des transitions réversibles entre des phases condensées et hydratées. En conséquence, la taille et le volume des TEP peuvent varier sans changements significatifs de masse. Ces transitions de phase dépendent des facteurs environnementaux comme le pH, la température, la pression et la densité des ions (Tanaka 1981, Passow 2002). Les propriétés physico-chimiques des TEP dépendent donc de leur histoire et des conditions spécifiques de formation (Kloareg et Quatrano 1988).

2.4.3. Distribution en taille des TEP

La taille des TEP et de leurs précurseurs varie du colloïde (1 kDa) à des particules de 100 micromètres. En générale, les TEP sont séparées en classes de taille selon le diamètre sphérique équivalent (ESD). La constante β est utilisée pour caractériser la distribution en taille des particules d'un échantillon (Cf Méthodologie, chap.II). D'après McCave (1984), la distribution des TEP à l'état d'équilibre devrait avoir un coefficient β égal à 3. Des valeurs inférieures à 3 indiquent une réduction de la contribution des petites particules. La distribution en taille des TEP étant essentiellement le fait de processus d'agrégation (Passow et Alldredge 1994, Mari et Kiørboe 1996), le coefficient β peut donc être utilisé comme un indicateur du degré d'agrégation (Passow 2002).

Des processus biologiques interviennent aussi dans la distribution en taille des TEP. Les bactéries et le zooplancton ont une influence sur cette distribution (Passow et Alldredge 1994). Les activités des copépodes, par exemple, ont comme conséquence la formation d'une plus grande quantité de TEP, et favorisent la formation de particules de grande taille (Passow *et al.* 2001).

2.5. Colonisation par les microorganismes

2.5.1. Les TEP : un habitat privilégié

Les particules procurent aux microorganismes aquatiques des substrats physiques et chimiques et un refuge (Alldredge et McGillivray 1992). Les agrégats renferment des microorganismes et des particules et forment une matrice poreuse sous la forme d'un gel. À l'opposé, on trouve des particules libres dans l'eau sous la forme des polymères fibrilleux. Ces derniers changent les propriétés de l'eau et sont responsables de la formation de microhabitats relativement stables pour les microorganismes (Passow 2002). Les TEP, de part leur structure physique et aussi chimique (éléments minéraux traces et matière organique), forment donc un environnement favorable aux microorganismes.

La matrice sous forme d'un gel et la nature fractale des agrégats réduisent la diffusion et les échanges vers l'extérieur permettant ainsi le développement de gradients chimiques et de microzones favorables aux microorganismes ou sein même des agrégats (Ploug et Grossart 2000). Ces microhabitats influencent la concentration en nutriments, le taux d'assimilation de ces nutriments et le broutage des bactéries par les organismes bactériovores (Passow 2002). La productivité bactérienne dans les agrégats, ainsi que la composition

bactérienne, différent de celle de l'eau environnante (Alldredge et Gotschalk 1989, Kaltenbock et Herndl 1992, Lemarchand *et al.* 2006). La formation de ces microzones influe sur le comportement chimiotactique des protozoaires. La colonisation des TEP par les protozoaires influence leur taux de prédation (Passow 2002).

2.5.2. Colonisation bactérienne

Les TEP fournissent aux bactéries des sites d'attachement. Elles sont donc toujours colonisées par les bactéries (Alldredge *et al.* 1993, Passow et Alldredge 1994). Cette colonisation bactérienne est très rapide et commence lors des premiers stades de la formation des TEP (Azam et Long 2001). Selon de nombreuses études (Passow et Alldredge 1994, Mari et Kiørboe 1996, Worm et Søndergaard 1998, Carrias *et al.* 2002, Arnous *et al.* 2010), la grande majorité des TEP abrite des bactéries attachées qui représentent 0.5-20% du nombre total des bactéries. En milieu lacustre, Carrias *et al.* (2002) ont souligné que la majorité des TEP dans les lacs Pavin et Aydat est colonisés par les bactéries qui représentent 1-17% des bactéries totale comptées. Ces particules sont plus colonisées dans le lac Pavin, de nature oligomésotrophe, que dans le lac eutrophe d'Aydat, indiquant que les TEP sont particulièrement importantes pour la croissance bactérienne dans des environnements pauvres en éléments nutritifs. En outre, les bactéries associées aux TEP ou aux particules organiques plus grandes (par exemple les agrégats) montrent fréquemment des activités enzymatiques plus élevées que les bactéries libres de l'eau environnante (Lemarchand *et al.* 2006, Carrias et Sime-Ngando 2009). De même, la composition de bactéries attachées aux particules est différente de celle des bactéries libres et les *Betaproteobacteria* et *Bacteroidetes* (*Cytophaga-flavobactéries*) sont les groupes dominants sur les particules dans les écosystèmes pélagiques (Lemarchand *et al.* 2006). En générale, la production des bactéries attachées aux particules augmente avec la taille des particules (Simon *et al.* 2002). Par contre, aucune relation générale n'a pu être établit entre l'abondance bactérienne et la concentration en TEP. La densité des bactéries sur les TEP varie fortement selon les milieux. Une particule de 5 μm de taille peut contenir de 0,08 à 0,7 bactérie par μm^2 (Passow 2002). En milieu lacustre, le nombre moyen de bactérie par unité de surface de particule est maximal (0.26 bactéries. μm^{-2}) sur les TEP de taille comprise entre 2 et 10 μm (Carrias *et al.* 2002)

2.6. Formation d'agrégats et agrégation du phytoplancton

La dynamique des TEP est importante pour la formation d'agrégats, notamment lors de grandes efflorescences phytoplanctoniques qui fréquemment se terminent par un phénomène d'agrégation (Alldredge et Gotschalk 1989). Ce rôle a été découvert lors d'une expérience d'agrégation à partir d'une culture de la diatomée marine *Chaetoceros gracilis* (Passow *et al.* 1994). Les concentrations en TEP dans l'eau étant liées à la biomasse phytoplanctonique, une augmentation de celle-ci induit une augmentation de la fréquence de collision du phytoplancton et des particules (Passow *et al.* 1994, Logan *et al.* 1995). La présence de TEP dans l'eau influence donc le taux d'agrégation par création de particules plus grandes et par augmentation de la viscosité générale (Passow 2002), ce qui conduit à la formation de gros agrégats qui constituent la neige marine ou lacustre (Passow *et al.* 1994).

Les expériences confirment que la formation d'agrégats détritiques lors du déclin des efflorescences de phytoplancton et notamment de diatomées est le plus souvent sous le contrôle des TEP (Logan *et al.* 1995). Le scénario d'agrégation d'une efflorescence de diatomées marines (*Chaetoceros affinis* et *C. neogracilis*) a été décrit par Logan *et al.* (1994). Les diatomées libèrent des précurseurs dissous dans l'eau pendant leur phase de croissance. Ensuite, pendant le développement de l'efflorescence, la concentration en TEP, formées par les précurseurs libérés par les diatomées et les autres espèces de phytoplancton, augmente fortement. L'agrégation devient alors prépondérante et atteint son maximum avec la fin de l'efflorescence (Logan *et al.* 1994). Les valeurs maximales de la taille moyenne et de l'abondance totale des TEP sont atteintes simultanément pendant la phase d'agrégation, ce qui met fin à l'efflorescence phytoplanctonique même dans des conditions de concentrations élevées en éléments nutritifs. La viscosité des TEP peut augmenter ou diminuer pendant la progression du bloom (Passow 2002). En accord avec le modèle de coagulation, l'agrégation domine la dynamique des particules quand la concentration en particules arrive à une valeur critique (Passow 2002). L'agrégation sous l'influence des TEP est non sélective, et toutes les catégories de particules présentes dans l'eau peuvent être incorporées aux agrégats. Les efflorescences de ce type sont le plus généralement observées dans les environnements marins (Passow *et al.* 1995). Les TEP peuvent également être générées au cours de la sénescence du phytoplancton lorsqu'une couche du mucus attachée aux cellules (couche de la surface cellulaire, matrice des colonies) se désintègre ou quand les

contenus des cellules se libèrent à la suite d'une lyse des cellules ou lors du broutage par le zooplancton (Passow 2002). Au cours d'une efflorescence dominée par des colonies des cyanobactéries, les concentrations en TEP restent faibles pendant la phase de croissance et les regroupements de colonies. Lors de la phase de sénescence les groupements muqueux se désintègrent et les TEP sont libérées dans l'eau ce qui conduit à la formation d'agrégats (Grossart et Simon 1997, Grossart *et al.* 1998). La formation des TEP par d'autres groupes phytoplanctoniques ayant des espèces coloniales (ex. *Phaeocystis*) est semblable à celle observée chez les cyanobactéries coloniales de même que la sédimentation des agrégats détritiques observés après la désintégration des colonies (Riebesell *et al.* 1995, Hong *et al.* 1997). Les agrégats se forment grâce aux espèces qui présentent des parois cellulaires collantes, formant des complexes denses de cellules (Hansen et Kiørboe 1997). Même si certaines diatomées marines peuvent s'agréger en l'absence de TEP, en raison de la viscosité de leurs parois cellulaires, ce mécanisme semble être rare dans les eaux marines, et tous les agrégats marins étudiés ont une matrice formée de TEP (Passow 2002).

Les TEP sont impliquées principalement dans la formation des agrégats d'origine phytoplanctonique mais aussi d'origine non-phytoplanctonique, par exemple à partir d'argiles et de matière déritique. Dans les systèmes marins, les TEP ont un rôle essentiel dans l'agrégation de la plupart des efflorescences phytoplanctoniques et des petites particules solides qui sont soustraites de la suspension par les TEP (Passow *et al.* 2001).

2.7. Impact sur le réseau trophique

Les TEP présentent des densités fluctuantes au cours de la saison mais également en fonction du niveau trophique du milieu (Passow et Alldredge 1994, Carrias *et al.* 2002). Elles sont susceptibles de jouer un rôle majeur dans les réseaux trophiques et dans les cycles biogéochimiques des écosystèmes aquatiques (Figure 4).

Les TEP peuvent être consommées par les eucaryotes et utilisées par les bactéries comme substrat. Cette utilisation dépend de la composition chimique des polysaccharides. Les TEP colonisées et les agrégats organiques sont donc considérés comme des microenvironnements particuliers qualifiés de hotspots, et l'activité des bactéries associées stimule le taux de croissance des microorganismes libres vivant dans le voisinage des particules (Simon *et al.* 2002). Les TEP et leurs précurseurs, comme les autres particules polymériques, peuvent être ingérés directement comme aliments par des petits organismes

filtreurs tels que le zooplancton (Passow 2002). Cette ingestion permet à la matière organique dissoute d'intégrer le réseau trophique. Malej et Harris (1993) ont montré que la présence de polysaccharides libres dans l'eau diminue la consommation des diatomées par les copépodes, car les microagrégats, formés de polysaccharides, fournissent une source alimentaire additionnelle et diminuent mécaniquement l'ingestion des cellules par les copépodes.

Ainsi, les microagrégats permettent un lien direct entre le réseau trophique microbien et le réseau trophique traditionnel car le zooplancton a accès à des particules qui contiennent des cellules de petite taille. Traditionnellement, on considère que la boucle microbienne et le réseau trophique classique sont connectés par l'activité de broutage du macrozooplancton sur les ciliées de grande taille (microzooplancton) qui consomment les bactéries et les nanoflagellés. En présence de TEP, les microorganismes sont utilisés directement par le zooplancton via la formation des microagrégats et la ressource alimentaire utilisable par ces animaux augmente (Passow 2002, Shine et Alldredge 2003, Shackelford et Cowen 2006).

2.8. Les TEP et le cycle du carbone

Toutes les études indiquent que ces particules gélatineuses existent en grand nombre dans tous milieux aquatiques ce qui suggère qu'elles ont un rôle important dans le cycle du carbone à l'échelle du globe. En milieu aquatique, une fraction importante de la production primaire est libérée dans l'eau sous forme de polysaccharides dissous ou sous forme colloïdale. Les polysaccharides représentent la plus grande fraction identifiable du carbone organique dans l'eau de mer (~ 25% du carbone organique dissous total dans les eaux de surface) (Benner *et al.* 1992, Kepkay 2000). Cette fraction du COD trouve son origine dans les efflorescences de diatomées (Senior et Chevolut 1991, Kepkay *et al.* 1993, Smith *et al.* 1995), mais d'autres sources proviennent des protozoaires, des bactéries et des virus (Nagata 2000). Une grande partie de ce COD formé est soustrait de la zone euphotique par l'utilisation bactérienne (Azam *et al.* 1983). La genèse abiotique des TEP, élimine une quantité importante du COD de l'eau par formation de neige marine et lacustre. Cette sédimentation peut être considérée comme un processus de perte du carbone organique dissous issue de la zone euphotique (Engel et Passow 2001). Les TEP ont donc un rôle direct très important sur le cycle du carbone. Des estimations de la fraction de carbone

sédimentées par la TEP ont été évaluées pour montrer l'importance quantitative potentielle des TEP dans le cycle du carbone. De Vicente *et al.* (2009) ont trouvé que les TEP contribuent de 0,02 à 31% de total carbone exporté aux sédiments dans le réservoir Quentar en Espagne. Passow *et al.* (2001) ont noté que le taux de sédimentation du carbone des TEP (TEP-C) à 500 m de profondeur est autour de 20-50 mg TEP-C m⁻² jour⁻¹ ce qui représente en moyenne environ 1% du stock de carbone et 50% de la production quotidienne.

2.9. Les TEP et la formation de biofilm

Des études (Berman et Holenberg 2005, Villacorte *et al.* 2009, Berman 2010) ont suggéré que les TEP pouvaient jouer un rôle important dans la formation de biofilm. Cette propriété a été initialement découverte dans les systèmes d'osmose inverse des industries de dessalement de l'eau de mer où les TEP peuvent conduire à l'encrassement biologique des membranes de nanofiltration (Berman et Holenberg 2005, Kennedy *et al.* 2009,). Le biofilm est généralement constitué de couches d'un assortiment de populations microbiennes, principalement des bactéries, qui se maintiennent ensemble dans une matrice de substances de polymères extracellulaires (EPS). Une fois que les TEP adhèrent à la surface de la membrane, elles peuvent fournir un substrat nutritif idéal pour la croissance microbienne et l'établissement d'un biofilm. Au début de la formation du biofilm, quelques TEP colonisées par les bactéries se collent à la membrane. Ensuite les micro-organismes du biofilm s'accroissent en utilisant pour leur nutrition les matières organiques dissoutes, y compris les colloïdes organiques et les TEP. Cela va conduire à l'élaboration d'une couche de biofilm formée par des bactéries et d'autres micro-organismes dans une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) (Berman et Holenberg 2005). En raison de leur grande abondance dans la plupart des eaux naturelles, les TEP pourraient avoir des implications importantes dans le développement de biofilm (Berman 2010), mais très peu d'étude actuellement de sont intéressées à ce rôle.

Chapitre : II
Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Présentation des sites d'étude	26
1.1. Le lac Pavin.....	26
1.2. Retenue de Grangent.....	26
1.3. Le lac de Créteil.....	27
1.3.1. Présentation du lac.....	27
1.3.2. Mésocosmes et protocole expérimental.....	29
2. Paramètres abiotiques et biotiques	32
2.1. Paramètres physico-chimiques.....	32
2.2. Concentration en chlorophylle <i>a</i>	32
3. Dénombrement des microorganismes	32
3.1. Dénombrement des bactéries	32
3.2. Dénombrement des protistes nanoflagellés hétérotrophes.....	33
3.3. Protistes ciliés	34
3.4. Dénombrement cellulaire du phytoplancton	35
3.5. Dénombrement de zooplancton.....	35
4. Les particules organiques détritiques de nature polysaccharidique (TEP)	36
4.1. Préparation du colorant.....	36
4.2. Dénombrement microscopique des TEP	37
4.3. Détermination colorimétrique (Dosage) des TEP	37
4.4. Distribution en taille des TEP	38
4.5. Colonisation bactérienne des TEP	39
5. Mesure du taux de sédimentation	40
6. Synthèse des études et analyse statistiques.....	42

1. Présentation des sites d'étude

1.1. Le lac Pavin

Le lac Pavin est situé dans le département du Puy-de-Dôme, sur le flanc N.E du Puy de Montchal (43° 30' 00" N ; 2° 53' 03" E) à une altitude de 1197m (Fig. 5). D'origine volcanique, il s'est installé depuis près de 6000 ans dans un cratère d'explosion de type maar (produit par la rencontre du magma ascendant et d'une nappe d'eau) issu d'une activité volcanique récente (Brousse et Delibrias 1969). Il est alimenté en eau par les précipitations atmosphériques qui représentent, en moyenne 1200-1600 mm d'eau par an, ainsi que par des sources superficielles (fontaine du Loup, source des prêtres ...) et également par des sources sous-lacustres (Amblard 1986). C'est un lac méromictique (Pelletier 1968) et dimictique avec des brassages partiels. Sa méromicticité est liée à la fois à l'importance de sa profondeur (profondeur maximale: 92 m) par rapport à sa surface (44 ha), et à sa situation géographique (lac de cratère) qui en fait un lac très protégé des vents. La limite entre le mixolimnion et le monimolimnion est située vers 55m de profondeur, celle de la zone photique étant située généralement entre 20 et 30m de profondeur (Amblard *et al.* 1992). Diverses études antérieures ont amené à considérer ce lac comme un milieu oligo-mésotrophe (Lair 1975, Devaux 1977, Adiwilaga 1983). Les caractéristiques morphométriques de ce lac sont résumées dans le tableau 2.

1.2. Retenue de Grangent

La retenue de Grangent est une retenue artificielle créée suite à la construction d'un barrage hydro-électrique de type barrage voute en 1957. Elle est située dans le sud-est du Massif Central (Fig. 5), à environ 15 km à l'ouest de Saint-Etienne, à 420 m d'altitude (45° 27' 14" N ; 4° 15' 19" E). Elle s'étend d'Aurec-sur-Loire à Saint-Rambert-sur-Loire entre les départements de la Haute-Loire et de la Loire. Elle constitue une importante réserve d'eau de $57,4 \times 10^6 \text{m}^3$ et draine un bassin versant de 3850 km². Les caractéristiques morphométriques de cette retenue sont résumées dans le tableau 2. La fonction essentielle du barrage de Grangent est la production d'électricité. Elle est assurée par une centrale électrique située à l'aval du barrage. Le barrage permet également l'alimentation en eau de la plaine du Forez par l'intermédiaire du canal du Forez. Ce canal partant de la rive gauche

du barrage et d'une longueur de 44km, était destiné à l'origine à l'irrigation. Aujourd'hui, il assure également la fourniture en eau potable de collectivités locales de la plaine du Forez. Enfin, une importante activité touristique est rattachée à la retenue avec la base nautique de Saint-Victor-sur-Loire, une activité pêche et des plages aménagées.

Depuis la fin des années 1970, les apports excessifs de phosphore et d'azote par les activités agricoles et les rejets d'eaux usées ont conduit à l'augmentation rapide du niveau trophique du lac. D'importantes efflorescences estivales de la cyanobactérie coloniale *Microcystis aeruginosa* sont apparues de manière récurrente vers la fin des années 1980. Des programmes de recherche ont alors été engagés sur le site par EDF Recherche & Développement afin de comprendre le fonctionnement de ce type d'écosystème et d'étudier les proliférations de *M. aeruginosa* (Berthon *et al.* 1996, Latour 2002, Latour *et al.* 2002, Latour et Giraudet 2004, Latour *et al.* 2004a,b, Humbert *et al.* 2005, Latour *et al.* 2007). Parallèlement, des actions ont été menées afin d'enrayer les proliférations cyanobactériennes, dont les résultats se sont montrés plus ou moins efficaces : dispositif de brassage artificiel (Latour *et al.* 2002), déphosphatation des eaux usées en amont de la retenue. Malgré ces efforts, les efflorescences cyanobactériennes sont toujours présentes en été sur cette retenue.

1.3. Le lac de Créteil

1.3.1. Présentation du lac

Le lac de Créteil (48° 46' 31" N, 2° 27' 8" E) est localisé dans la banlieue de Créteil à 15km au sud-est de Paris dans le département du Val-de-Marne (Fig. 5). L'origine de ce petit lac (42 ha) superficiel (profondeur moyenne 4m) est une carrière d'extraction de gypse et de graviers. Cette gravière, exploitée de 1940 à 1976, a été creusée dans les anciennes alluvions de la Seine et de la Marne et a atteint la nappe phréatique de Champigny. Milieu fermé, le lac est alimenté par la pluviométrie directe, l'exutoire du collecteur pluvial du Mont-Mesly, drainant 40 ha de zone urbaine, et par la nappe phréatique. L'aménagement de la carrière en lac après de nombreux travaux lui a donné une forme allongée selon un axe nord-sud. Les caractéristiques morphométriques de ce lac sont résumées dans le tableau 2.

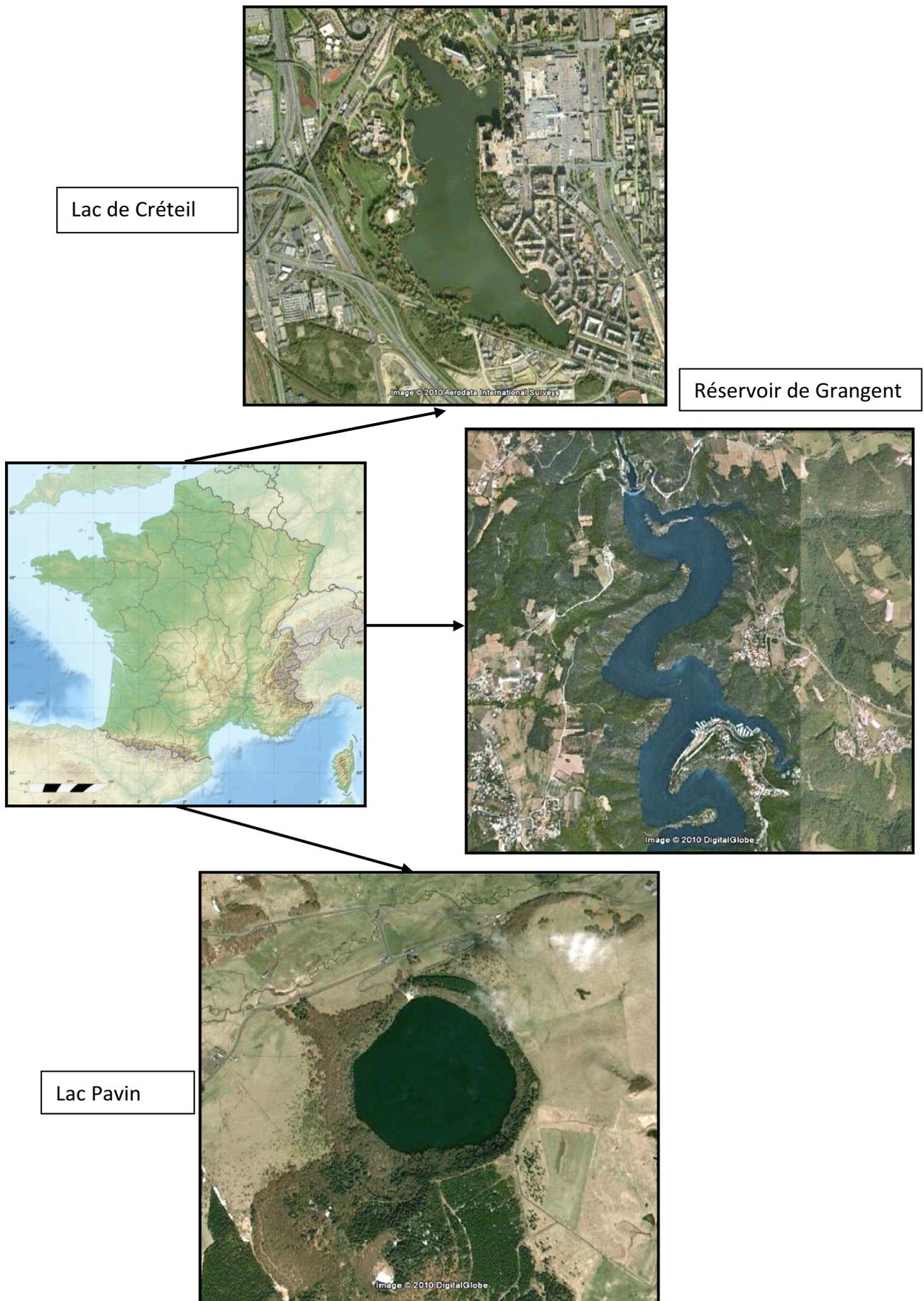


Figure 5. Images satellites des 3 lacs étudiés (Source : Google Earth)

Tableau 2. Caractéristiques morphométriques des trois lacs étudiés.

Caractéristiques morphométriques	Grangent	Créteil	Pavin
Statut trophique	Hyper-eutrophe	mésotrophe à eutrophe	Oligo-mésotrophe
Altitude du plan d'eau (m)	420	44	1197
Superficie (A. x 10 ⁴ m ²)	365	42	44
Volume (x 10 ⁶ m ³)	57,4	-	22,98
Longueur maximale (m)	21×10 ³	1500	700
Largeur maximale (m)	400	400	625
Profondeur maximale (m)	50	6	98
Profondeur moyenne (m)	35	4,5	54,9
Surface du bassin versant (x 10 ⁶ m ²)	3850	40	50

1.3.2. Mésocosmes et protocole expérimental

Au cours de nos travaux, nous avons testé l'impact de la structure des réseaux trophiques sur les TEP et le réseau trophique microbien, et sur le taux de sédimentation de la matière organique. Ces études ont été réalisées en conditions contrôlées en utilisant des enclos limniques installés sur le lac de Créteil par l'équipe « Biodiversité et Fonctionnement des Ecosystèmes » du Laboratoire "Fonctionnement et Evolution des Systèmes Ecologiques" (CNRS UMR 7625).

Les mésocosmes sont des systèmes clos en polyéthylène d'un volume de 40 m³ (3 × 3 × 4,5 m de longueur, largeur et profondeur respectivement) et ayant une surface de 9 m² (Fig. 6, 7). Ils sont directement immergés dans le lac ce qui permet une régulation beaucoup plus naturelle des conditions physiques auxquelles sont soumis ces systèmes. Les enclos ont été remplis avec de l'eau du lac pompée entre 1 et 2 mètres de profondeur et filtrée à travers un filtre d'une maille de 1 mm de porosité pour éviter toute contamination par des grandes particules. Pour empêcher l'accès aux oiseaux, les enclos ont été couverts par un filet fin en nylon fixé sur la structure des enclos. Deux traitements simples ont été mis en place afin d'aboutir à deux structures de réseaux trophiques très différentes. Les huit enceintes ont été installées en deux séries dont 4 ont reçu 40 poissons par enceinte, soit un poisson par mètre-cube, alors que les 4 autres enceintes ont servi de contrôle. La densité de poissons correspond à celle rencontrée dans les lacs eutrophes. L'espèce de poisson choisie est le

Gardon *Rutilus rutilus* (Linné) qui domine la biomasse piscicole dans beaucoup de lacs mésotrophes et eutrophes de l'Eurasie (Craig 1978, Winfield et Nelson 1991). Au début de l'expérience, les poissons âgés d'un an avaient une longueur standard de 42.6 ± 2.7 mm (moyenne du poids frais: 0.66 ± 0.15 g). Dans chaque enceinte, 4 litres d'eau du lac non filtrés (0,01% du volume total de l'enceinte) ont été ajoutés mensuellement pour éviter une déviation potentielle due à l'expérience de long terme effectuée dans les systèmes fermés, et également pour permettre d'avoir une colonisation par des espèces qui étaient absentes au moment de remplir les mésocosmes. Pour maintenir le système dans des conditions eutrophes, les enclos ont été hebdomadairement enrichis par des engrais inorganiques. Les éléments nutritifs ont été ajoutés comme un mélange liquide de nitrate de sodium (NaNO_3) et de phosphate de potassium (KH_2PO_4) avec un rapport N: P est égal 20:1, et une charge de phosphore de $3 \mu\text{g P L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$. Enfin, $2 \mu\text{g}$ de $\text{Fe-FeCl}_3 \text{ L}^{-1}$ et $30 \mu\text{g}$ de $\text{Si-Na}_2\text{SiO}_3 \text{ L}^{-1}$ ont été ajoutés à deux reprises pendant l'expérience pour éviter la limitation du fer ou du silicium.

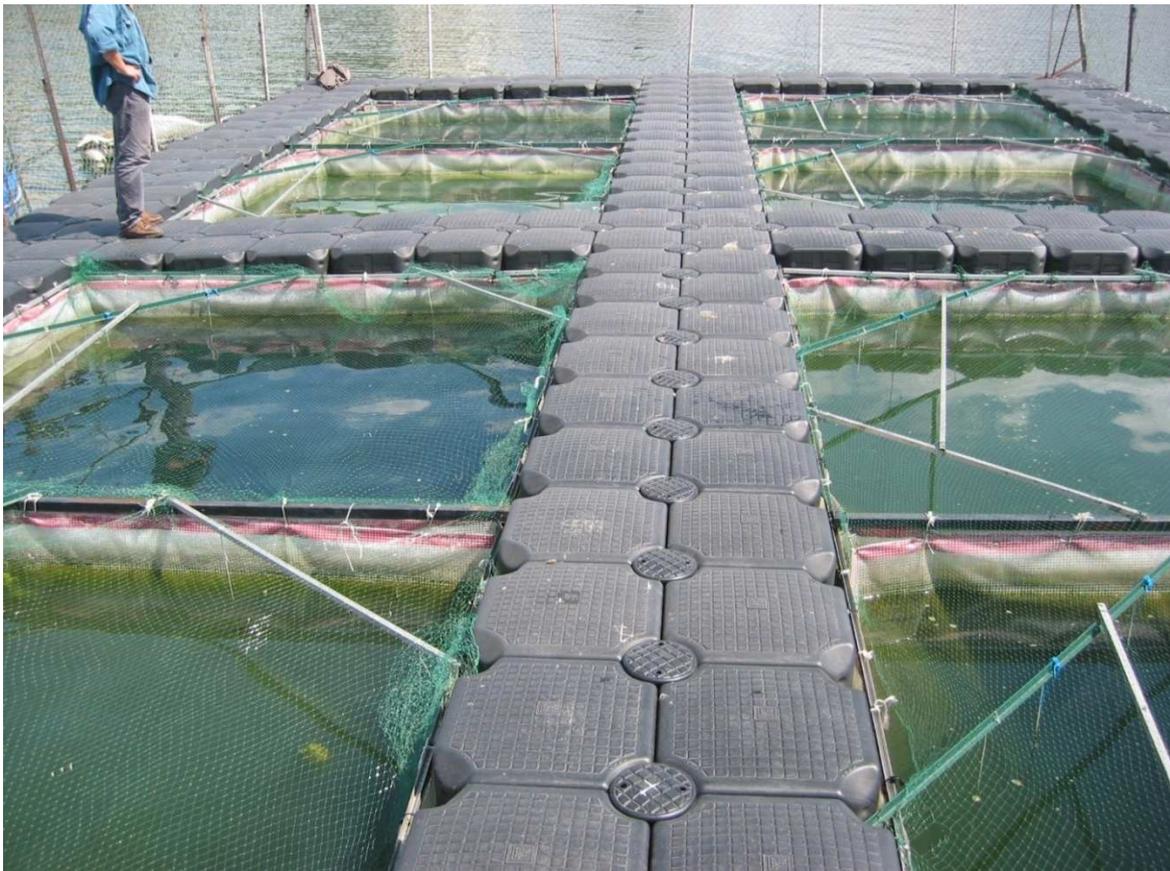


Figure 6. Photo des enclos limniques installés sur le lac de Créteil.

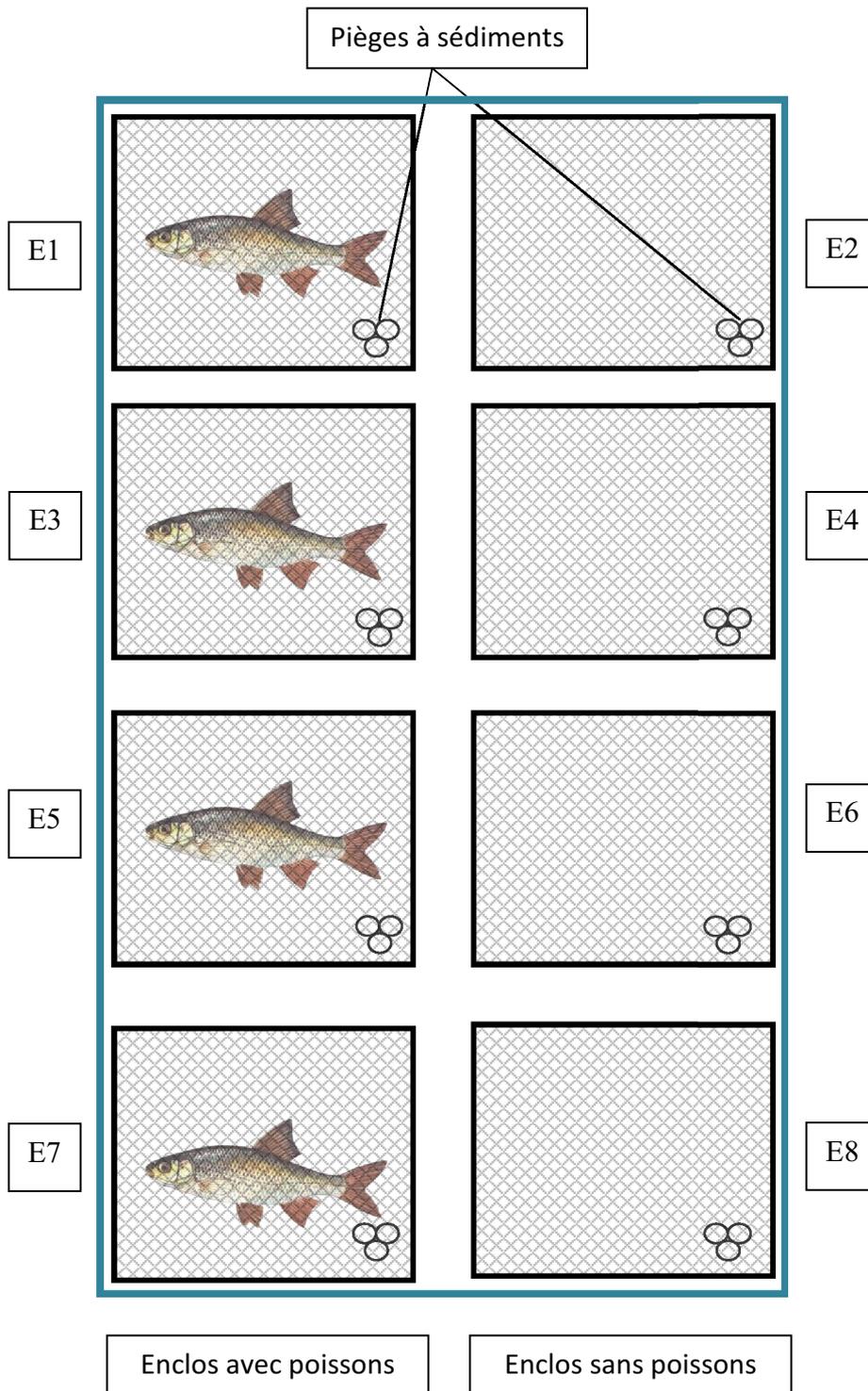


Figure 7. Schéma général du protocole expérimental utilisé au sein des enclos limniques installés sur le lac de Créteil.

2. Paramètres abiotiques et biotiques

2.1. Paramètres physico-chimiques

La transparence de l'eau a été estimée en mesurant la profondeur de disparition du disque de Secchi. La température et l'oxygène dissous sont déterminés in situ à l'aide d'une sonde multi paramètre de marque WTW (Proflin OXE 197).

2.2. Concentration en chlorophylle *a*

Le dosage de la chlorophylle *a* été réalisé par filtration sous vide d'un volume compris entre 0,5 et 2,5 litres d'eau brute sur des filtres en fibre de verre appropriés (Watman GF/C, diamètre : 47 mm). L'extraction s'est faite par broyage de ces filtres au Potter dans un volume déterminé d'acétone à 90%, au froid et dans la semi-obscurité. Les extraits acétoniques contenant les pigments ont été récupérés après centrifugation, puis, dosées à l'aide d'un spectrophotomètre et les concentrations déterminées grâce aux équations du groupe de travail SCOR/UNESCO (1964).

3. Dénombrement des microorganismes

3.1. Dénombrement des bactéries

Le dénombrement des bactéries hétérotrophe a été réalisé selon deux méthodes différentes. La première utilisée est la cytométrie en flux pour les échantillons des enclos du lac de Créteil. Ces échantillons ont été traités par le cytomètre en flux FACSCalibur (Becton Dickinson) équipé d'un laser refroidi à l'air qui fourni 15 mW à 488 nm avec la configuration de filtre standard. Le protocole détaillé a été largement décrit par Marie *et al.* (1997, 1999) et Duhamel et Jacquet (2006). Un sous-échantillon de 1 ml a été dilué avec 0,02 µm de TE (Tris-EDTA, pH = 8) tampon filtré et est coloré au SYBR Green I (1 / 20.000 dilution finale de la solution mère) puis incubé pendant 5 min à l'obscurité avant d'être chauffé pendant 10 min à 75 ° C. Après 5 minutes du chauffage, la procédure d'analyse peut commencer. Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel CYTOWIN (Vaulot 1989).

Pour les autres études, le protocole classique utilisant une coloration au DAPI (4, 6 diamidino 2 phénylindol) selon la méthode de Porter et Feig (1980). Des volumes d'eau de 2 à 5 ml, fixés au formaldéhyde (2% en concentration finale), sont filtrés sur des membranes

Nuclepore de 0,2 μm de porosité sous lesquelles des filtres en acétate de cellulose (Sartorius, porosité : 1,2 μm) sont placés afin d'assurer une dispersion homogène des bactéries. Après incubation pendant 30 minutes à l'obscurité avec 450 μl de DAPI (5 $\mu\text{g.l}^{-1}$), les filtres sont rincés avec de l'eau distillée (5 ml x 3 fois). Ensuite, les membranes ont été séchées à l'obscurité et montées entre lame et lamelle entre deux gouttes d'huile à immersion (type Olympus), puis immédiatement stockées à -25°C dans du papier d'aluminium. Un filtre sans échantillon est également traité pour servir de contrôle. L'observation est effectuée à l'aide d'un microscope à épifluorescence (Leica DM IRB, Grossissement 1100x) sous lumière UV ce qui permet l'observation des bactéries hétérotrophes colorées au DAPI, qui émettent une fluorescence bleue brillante alors que le matériel détritique est de couleur jaune pâle. Les bactéries d'un total de 30 champs, distribués sur tout le filtre, sont comptées pour estimer l'abondance des bactéries totales.

3.2. Dénombrement des protistes nanoflagellés hétérotrophes

Les échantillons d'eau destinés au dénombrement des protistes flagellés sont fixés au glutaraldéhyde (concentration finale : 1%). Ce fixateur permet une excellente fixation des protistes flagellés et il est conseillé pour la conservation de ces cellules car il n'interfère pas avec la fluorescence lors des observations (Bloem *et al.* 1986). Après homogénéisation de l'échantillon, 5 à 15 ml sont placés dans la colonne à filtration et sont filtrés sous vide sur des membranes Nucléopore noir en polycarbonate de 0,8 μm de porosité et de 25mm de diamètre. Un sous filtre de 1,2 μm est également utilisé pour une meilleure répartition des cellules. 0,5 à 1,5 ml de la solution de primuline ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_3\text{Na}$, SIGMA) sont rajoutés à l'échantillon afin d'obtenir une concentration finale de 20 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ (Caron 1983). Après une incubation de 5 minutes en obscurité, une filtration sous vide a été appliquée à l'aide d'une pompe avec une pression n'excédant pas 100 mm de mercure. Le filtre est ensuite rincé 3 fois avec 2 ml d'une solution tamponnée (trizma hypochloride 0,1M, pH4, Sigma T-6666) préfiltrée sur une unité minisart de 0,2 μm de porosité. La primuline se fixe sur les polysaccharides, ainsi, les contours des cellules sont nettement visibles ce qui permet une identification rapide avec une visualisation de la cellule entière et notamment les flagellés (Brock, 1978). Enfin, le pH de cette solution (pH=4) permet une fluorescence optimale de la primuline (Caron, 1983). Après séchage de la membrane à l'obscurité, le filtre est monté

entre lame et lamelle entre deux gouttes d'huile à immersion (type Olympus), puis stocké à -25°C dans du papier d'aluminium pour éviter la perte de fluorescence (Bloem *et al.* 1986). Un filtre sans échantillon est également traité selon la méthode décrite pour servir de blanc. Le dénombrement et l'identification sont effectués sous lumière ultraviolette à l'aide d'un microscope à épifluorescence Leica (DM IRB) au grossissement 1100x. L'observation en lumière UV permet la visualisation de tous les protistes flagellés colorés à la primuline. Ces derniers apparaissent généralement bleus et très brillants. L'examen en lumière bleue permet d'observer uniquement les protistes flagellés pigmentés grâce à leur coloration en rouge liée à la chlorophylle *a*. Un total de 300-600 nanoflagellés (sur 40 champs ou des secteurs) a été compté par lame. Les biovolumes moyens ont été convertis en biomasse en utilisant le facteur de conversion proposé par Borsheim et Bratback (1987), à savoir $1\mu\text{m}^3 = 220 \text{ fg C}$.

3.3. Protistes ciliés

Le chlorure de mercure permet une meilleure conservation des ciliés par rapport aux autres fixateurs mais il est coûteux et fortement toxique (Pace et Orcutt 1981, Laybourn-Parry 1992). Peu de pertes se produisent avec le lugol (stoecker *et al.* 1994), l'inconvénient est qu'il donne généralement aux protozoaires une coloration similaire à celle de la plupart des particules naturelles présentes dans le plancton, ce qui crée un facteur de confusion (Pace et Orcutt 1981). Après la fixation par le lugol (4% finale), les échantillons (200 ml) sont stockés à l'obscurité et à 4°C avant le dénombrement en microscopie inversée. La densité des ciliés a été déterminée selon la méthode d'Utermöhl (1958) à l'aide du microscope inversé (Gifford et Caron 2000). On laisse sédimenter pendant 24h un volume de 20 à 50 ml de l'échantillon qui est ensuite observé au microscope inversé type Leica. Généralement, plus d'une centaine de protistes ciliés sont dénombrés par échantillon (grossissement: 500 x). Cela nécessite, le plus souvent, l'examen de la totalité de la cuve à sédimenter. Les protistes ciliés sont identifiés au niveau du genre en consultant différents ouvrages de référence (Dragesco et Dragesco-Kerneis 1986, Foissner 1994, Foissner et Berger 1996, Foissner 1999). Conformément aux recommandations de Sime-Ngando (1991), les dénombrements ont été réalisés dans les deux mois qui ont suivi la fixation des échantillons. Pour chaque espèce de cilié, un biovolume moyen est estimé en mesurant une cinquantaine de cellules et en

assimilant celles-ci à des formes géométriques. Pour l'estimation des biomasses, le facteur de conversion proposé par Putt et Stoecker (1989) a été utilisé, à savoir $1 \mu\text{m}^3 = 190 \text{ fg C}$. Ce facteur de conversion est utilisé pour les ciliés fixés au lugol (Gifford et Caron 2000).

3.4. Dénombrement cellulaire du phytoplancton

Pour l'étude qualitative et quantitative des organismes phytoplanctoniques, des volumes d'eau de 180 ml sont fixés au lugol (eau : 100 ml, iodure de potassium : 3g, iode : 1,5g) et conservés à 4°C jusqu'au dénombrement. Le comptage a lieu à l'aide d'un microscope inversé Wild M 40 selon la méthode d'Utermöhl (1958) modifiée par Legendre et Watt (1971-1972). Les échantillons fixés ont été homogénéisés puis un volume compris entre 20 et 60 ml a été sédimenté dans des colonnes pendant 24 h. Ensuite la cuve a été transférée sous le microscope inversé pour analyse et dénombrement des algues et cyanobactéries microscopiques. Le dénombrement est effectué dans 40 champs à un grossissement de 400X. Le phytoplancton est identifié au niveau de l'espèce en consultant différents ouvrages de référence (Bourrelly 1981, 1985, 1990, Komarek and Anagnostidis 1999, 2005). Le nombre de cellules (ou colonies) est ensuite transformé en nombre d'individu par litre pour chaque taxon. Selon Lund *et al.* (1958), l'étude des erreurs liées aux dénombrements montre qu'il suffit de dénombrer 16 individus dans le volume d'observation pour avoir une précision de 50%. Généralement, de 200 à 400 individus répartis sur 30 champs optiques sont dénombrés pour chaque échantillon.

Pour les dénombrements cellulaires de la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa*, 1ml d'échantillon a été soumis aux ultrasons (20kHz, 30 sec) afin de dissocier les colonies et obtenir une suspension cellulaire. Les cellules sont ensuite comptées selon des triplicats en utilisant des cellules de Thoma, au microscope optique (x400). Les résultats sont exprimés en nombre des cellules par litre d'eau.

La biomasse phytoplanctonique a été calculée en assimilant chaque taxon à des formes géométriques afin de calculer un biovolume moyen par espèce (Hillebrand *et al.* 1999). La biomasse est alors estimée en considérant que $10^6 \mu\text{m}^3 = 1 \mu\text{g}$ (poids frais) et en considérant que le carbone organique des cellules représente 12% de la biomasse en poids frais.

3.5. Dénombrement de zooplancton

Les organismes zooplanctoniques sont récoltés grâce à un trait de filet (porosité de 100 μm) vertical pour différentes strates selon les milieux étudiés. Les organismes sont transférés dans un pot stérile de 180 ml et immédiatement fixés au sucrose/formaldéhyde (4 %) et conservés à 4 °C. Après une coloration au rose Bengale, l'identification et le dénombrement du zooplancton métazoaire sont réalisés sous loupe binoculaire dans des chambres de DOLFFUS. La biomasse de chaque taxon métazooplanctonique (et de ses stades de développement) a été calculée en poids sec à partir de droites de régression longueur-poids (crustacés) et de données (rotifères) établies par Dumont *et al.* (1975) et Bottrell *et al.* (1976).

4. Les particules organiques détritiques de nature polysaccharidique (TEP)

4.1. Préparation du colorant

Les TEP ont été définies comme des particules retenues sur des filtres polycarbonates de porosité de 0,4 μm qui se colorent avec le bleu d'Alcian (Alldredge *et al.* 1993). Le bleu d'Alcian (phtalocyanin de cuivre avec quatre chaînes latérales de méthylène-tétraméthyl-cisothiuronium-chlorure) est un colorant cationique hydrophile qui se complexe avec les groupes de carboxyle ou de sulfate anioniques de polysaccharides acides. Les chaînes latérales de bleu d'Alcian réagissent avec les groupes acides des polysaccharides pour donner un pigment insoluble non-ionique. La sélectivité de la coloration peut être contrôlée en variant le pH ou la teneur en sel de la solution de colorant. Pour un pH de 2,5 la solution de bleu d'Alcian va colorer instantanément les polysaccharides (Horobin 1988). Le bleu d'Alcian a déjà été utilisé dans les recherches médicales et biologiques pour colorer les couches muqueuses internes ou externes, les polysaccharides intra-extracellulaires des algues et des colonies ou les parois d'algues et de bactéries (Ramus 1977, Vandenvivere et Kirchman 1993).

La méthode utilisée au cours de nos travaux est basée sur le protocole décrit par Passow et Alldredge (1995) et utilise une solution mère de bleu d'Alcian 8GX (1% en concentration finale, Sigma A-9186) acidifiée avec de l'acide acétique (2% en concentration finale), le pH étant ajusté à 2,5. Cette solution peut être conservée à 4°C à l'obscurité. 30 minutes avant l'utilisation, des volumes sont dilués 30 fois avec de l'eau distillée autoclavée

afin d'obtenir une solution fille dont les concentrations en bleu d'alcian et en acide acétique sont respectivement de 0,03% et 0,06%. Cette solution fille est ensuite filtrée sur unité minisart de 0,2 μm de porosité pour éviter tout dépôt et contamination bactérienne (Passow et Alldredge 1995). La solution servira à colorer les particules qui peuvent être soit dénombrées et mesurées en microscopie, soit quantifiées par un dosage colorimétrique.

4.2. Dénombrement microscopique des TEP

Cette méthode permet de déterminer l'abondance et la taille des TEP, mais aussi leur surface totale. Un volume de 5 à 10 ml de chaque échantillon est filtré en triplicat sur des membranes en polycarbonate blanc de 0,2 μm de porosité et de 25mm de diamètre (Millipore type GTTP), superposées à des sous-filtres en acétate de cellulose (Sartorius, porosité : 1,2 μm) afin d'assurer une dispersion homogène des particules. Ces membranes reçoivent alors 500 μl de la solution fille de bleu d'Alcian filtrée sur une unité minisart de 0,2 μm de porosité pendant 4 secondes. Les membranes sont immédiatement rincées avec 3 x 3 ml d'eau distillée et stérilisée puis séchées à l'obscurité et ensuite montées entre lame et lamelle dans une petite goutte d'huile à immersion (type Olympus). Les préparations sont stockées à -25°C dans du papier d'aluminium jusqu'au moment de leur observation et un blanc sans échantillon est également coloré au bleu d'Alcian pour servir de contrôle. L'observation est effectuée à l'aide d'un microscope à épifluorescence (LEICA FU) au grossissement 1100x, muni d'une caméra couleur de type SONY 3CCD associée à un logiciel d'analyse d'images (LEICA Qwin). Ainsi, chaque particule, sur une quarantaine de champs choisis au hasard ou dans un secteur spécifique du filtre, est caractérisée selon sa longueur, sa largeur, sa surface et son diamètre sphérique équivalent.

4.3. Détermination colorimétrique (Dosage) des TEP

Des volumes de 20 à 75 ml d'eau brute sont filtrés (pression <100 mm de mercure) sur des membranes blanches en polycarbonate (type millipore GTTP) de 0,4 μm de porosité et de 25 mm de diamètre. Ces membranes sont traitées au bleu d'Alcian comme précédemment puis rincées avec 3 x 3 ml d'eau distillée. Les filtres sont ensuite plongés dans des boîtes qui contiennent chacune 6 ml d'acide sulfurique à 80% pendant 2 heures et remués 6 fois afin de dissoudre les particules. Un filtre sans échantillon est également coloré

pour servir de contrôle. Pour chaque échantillon, quatre réplicats ont été réalisés pour garantir une fiabilité des résultats. Les solutions obtenues sont ensuite dosées par spectrophotométrie dans des cuves de 1cm à la longueur d'onde de 787 nm en utilisant de l'eau distillée comme blanc.

Cette méthode est semi-quantitative, car la quantité du bleu d'Alcian absorbé sur les TEP est liée directement au poids d'un polysaccharide spécifique (Ramus 1977). En raison de cette spécificité, la quantité de colorant lié aux TEP est standardisée à l'aide de Gum Xanthan (Passow et Alldredge 1995). Plus précisément, la Gum Xanthan (qui a été choisie car elle permet à la fois une bonne coloration et une bonne réplification du dosage) a été utilisée afin d'avoir une correspondance en équivalence Gum Xanthan entre la quantité de TEP et le dosage colorimétrique (Passow et Alldredge 1995). Pour ce faire, une solution standard est fabriquée en diluant 15 mg de Gum Xanthan (Sigma G-1253) dans 200 ml d'eau distillée. 2-3 ml sont ensuite filtrés sur un filtre et ce filtre subit une coloration identique à celle décrite précédemment. La concentration en TEP est calculée en équivalent Gum Xanthan ($X_{eq} \cdot \mu g \cdot l^{-1}$) grâce aux formules de Passow et Alldredge (1995):

$$C_{TEP} = (E_{787} - C_{787}) \times (V_f)^{-1} \times f_x \quad \text{et} \quad f_x = W \times [(est_{787} - C_{787}) \times V_{st}^{-1}]^{-1}$$

Avec:

C_{TEP} , la concentration des TEP en équivalence Gum Xanthan ($X_{eq} \cdot \mu g \cdot l^{-1}$)

E_{787} , l'absorption de l'échantillon

C_{787} , l'absorption du blanc

V_f , le volume filtré en litre

f_x , la calibration

W , le poids sec de la solution standard en $\mu g \cdot l^{-1}$

est_{787} , l'absorption du standard

V_{st} , le volume de solution standard filtré en litre

4.4. Distribution en taille des TEP

Les distributions en taille des TEP sont souvent décrits par la loi de puissance du type $N = k \cdot d_p^{-\beta}$, où la constante k dépend de la concentration des particules et β décrit le spectre de taille. La constante β est utilisée pour caractériser la distribution en taille des particules d'un échantillon (Mari et Kiørboe 1996, Carrias *et al.* 2002).

Pour chaque échantillon, les TEP comptées ont été séparées en 5 sous-classes de taille en fonction de leur diamètre sphérique équivalent (DSE) (<5, 5-10, 10-15, 15-20 et >20 μm). Pour chaque intervalle de taille, la concentration des particules (dN) a été normalisée à la longueur de l'intervalle (dp) et tracée en fonction de la longueur moyenne arithmétique (l) (Fig. 8). Les paramètres k et β sont alors estimés par régression (Mari et Kiørboe 1996, Carrias *et al.* 2002). Les relations significatives ($P < 0,05$) indiquent que la distribution en taille des TEP suit la loi de puissance. Une diminution de β signifie une réduction de la contribution des petites particules. D'après McCave (1984), si l'on admet que le spectre de taille des TEP est essentiellement sous le contrôle de processus de coagulation liés à la turbulence, alors une distribution des TEP à l'état d'équilibre devrait avoir un coefficient β égal à 3. Les valeurs de β non significatives ou inférieures à 3 peuvent être interprétées comme une indication d'une distribution de particules qui n'est pas dans un état d'équilibre. Cela correspond à une augmentation de la fraction des grands particules et indique un processus d'agrégation (Passow et Alldredge 1994, Mari et Kiørboe 1996).

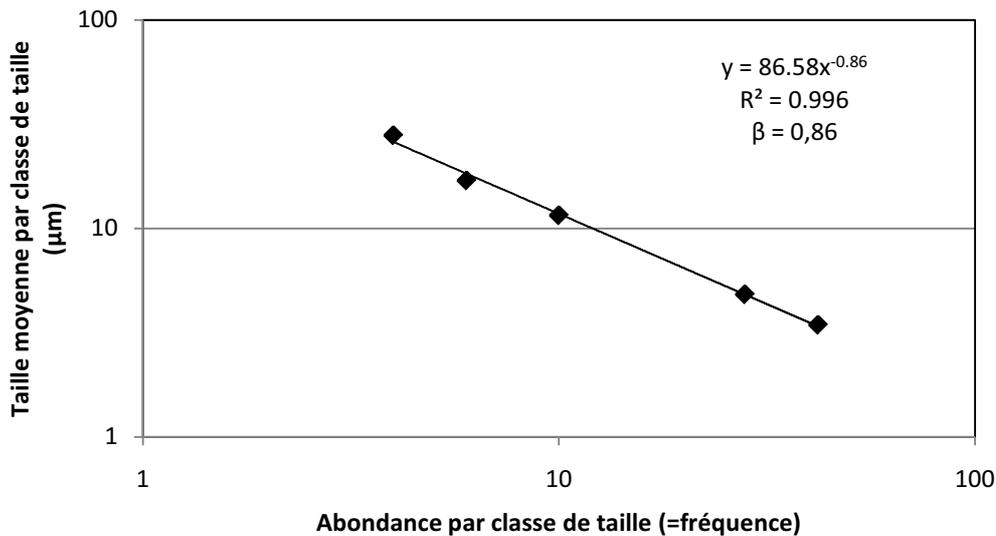


Figure 8. Exemple de régression entre la taille moyenne chaque classe de taille (<5, 5-10, 10-15, 15-20 et >20 μm) et l'abondance moyenne de cette classe permettant de calculer le coefficient β pour un échantillon (Pavin, avril 2007, 1m de profondeur).

4.5. Colonisation bactérienne des TEP

Les échantillons fixés au formaldéhyde (2% en concentration finale) sont colorés au DAPI et au bleu d'Alcian. La coloration au DAPI permet de quantifier les bactéries attachées sur les TEP alors que le bleu d'Alcian permet la visualisation de ces particules (Passow et Alldredge 1994). Les échantillons sont filtrés sur des membranes en polycarbonate blanc de

0,2 µm de porosité et de 25mm de diamètre (Millipore type GTTP). Ces filtres sont déposés sur des sous-filtres en acétate de cellulose (Sartorius, porosité : 1,2 µm). Après la filtration à faible pression (moins de 100 mm de mercure), les membranes subissent une première coloration au DAPI (500 µl, concentration à 5 µg.l⁻¹). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, les filtres sont rincés et une deuxième coloration est effectuée avec 500 µl de la solution fille préfiltrée de bleu d'Alcian, suivit d'un rinçage avec 5 ml d'eau distillée stérilisée. Les filtres sont ensuite séchés à l'obscurité puis montés entre lame et lamelle entre deux gouttes d'huile à immersion. Les lames sont stockées dans du papier d'aluminium à -25°C jusqu'au moment de l'observation. Les lames sont observées en microscopie à épifluorescence en utilisant la camera et le logiciel d'analyse d'images décrits précédemment. La lumière blanche permet de visualiser les TEP qui apparaissent bleues et sous la forme d'un gel le plus souvent. L'utilisation de la lumière UV permet de visualiser les bactéries colorées au DAPI et fixées sur les TEP. Toutes les analyses sont réalisées à partir de l'enregistrement d'images afin de diminuer la chute de la fluorescence sur les préparations.

La colonisation bactérienne des TEP a été estimée (pour le lac Pavin en 2005 et le réservoir de Grangent en 2007) par la fonction $n = a \times d^b$, avec n le nombre de bactéries par particule, d le diamètre sphérique équivalent (DES), et a et b des constantes pour un échantillon donné, obtenus à partir de la régression entre le logarithme de n par rapport au logarithme de d (Mari et Kiørboe 1996) (Fig. 9). Ces régressions doivent être statistiquement significatives ($P < 0,05$) pour être prise en considération. Les différences de valeurs indiquent des différences dans la colonisation bactérienne des TEP. Pour les autres études une simple estimation de la densité des bactéries par TEP a été réalisée.

5. Mesure du taux de sédimentation

Afin de déterminer les taux de sédimentation dans les enclos de Créteil, des pièges à sédiments (tubes PVC) de forme cylindrique (longueur 25cm, diamètre 5 cm et avec un fond obturé par une pièce de PVC) ont été installées au fond des enceintes (à 3,5 m de profondeur). Leurs dimensions ont été retenues afin d'être le plus représentatif possible du processus réel de sédimentation (Bloesch et Burns. 1980). Ces pièges sont utilisés pour récupérer la matière sédimentée dans les enceintes afin d'en étudier la composition en éléments (C, N). Trois pièges (3 tubes) distincts ont été récupérés environ toutes les deux

semaines. Après nettoyage, ceux-ci sont remis en place dans les enceintes. Après séparation des sédiments, du surnageant et du zooplancton vivant la matière organique est séchée dans un four à 60°C pendant 24 heures. Les échantillons sont ensuite pesés, broyés et homogénéisés puis conservés dans des conditions sèches jusqu'à l'analyse. Le taux de sédimentation sur les pas de temps a été déterminé et considéré en g de poids sec m⁻² jour⁻¹. La composition en carbone des sédiments a été analysée en utilisant un analyseur CHN élémentaires (NA 1500 Series 2, Fisons) et le taux a été exprimé en g de C m⁻² jour⁻¹.

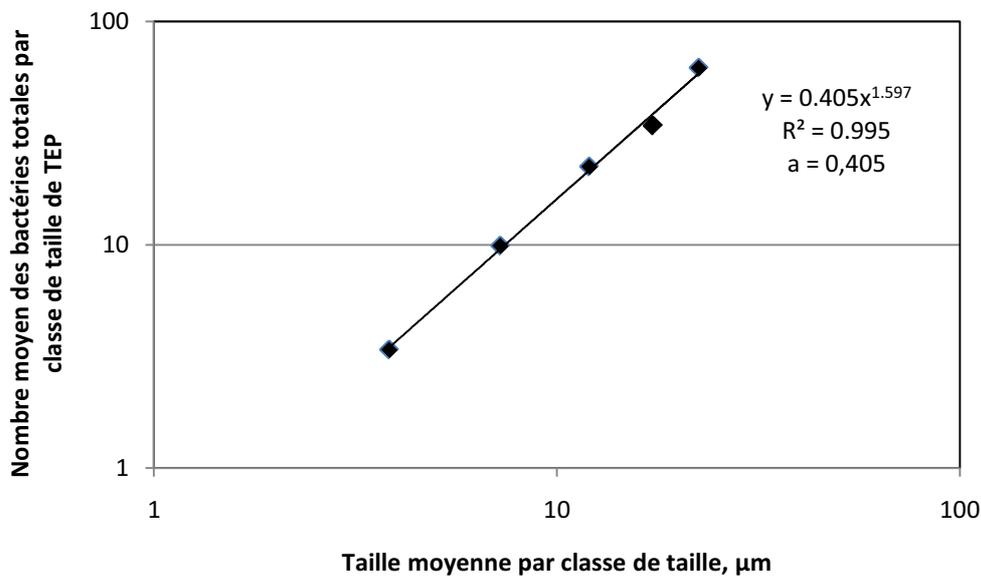


Figure 9. Exemple de régression entre le nombre total de bactéries attachées par classe de taille de particule et la taille moyenne des particules par classe de taille (les classes de taille sont 2-5, 5-10, 10-15, 15-20 et 20-50 μm) permettant de calculer la constante a (Pavin, avril 2005, 15m de profondeur).

6. Synthèse des études et analyse statistiques

Dans le Tableau 3, les différents paramètres biologiques mesurés sont présentés en fonction des études.

Tableau 3. Principaux descripteurs biotiques considérés en fonction des études.

	Pavin 2005/2006	Pavin 2007	Grangent 2007	Enclos de Créteil
Phytoplancton				
Abondance	x	x	x	x
Biomasse		x	x	x
Chlorophylle <i>a</i>	x	x	x	x
Protozoaires				
Abondance HNF	x	x	x	X
Abondance ANF	X ¹	X ¹	X ¹	X ¹
Abondance ciliés		x	X ¹	x
Zooplancton				
		X ¹		x
Bactéries (abondance)				
	x	x	x	x
TEP				
Abondance+surface	x	x	x	x
Dosage	X ¹	x	x	
Spectre de taille (β)	x	x	x	x
Colonisation bactérienne (a)	x		X ¹	x

1 : données non présentées dans ce mémoire.

Les relations potentielles entre les TEP et les différentes variables sont analysées par régression linéaire. Les différences dans les variable (abiotiques, biotiques et TEP) entre les lacs et également entre les enclos ayant subi des traitements différents ont été testées par une analyse de variance (ANOVA) à un facteur avec mesures répétées. Les différences dans le rapport TEP/Chlorophylle *a* entre le lac Pavin et le réservoir de Grangent ont été analysées par le test non paramétrique de Mann-Whitney. Nous avons utilisé PAST (Hammer *et al.* 2001) ou SYSTAT (Systat foftware Inc., San Jose, CA, USA) pour effectuer toutes les analyses statistiques.

Chapitre : III

Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

Arnous, M.B., Courcol, N. et Carrias, J.F. 2010. The significance of Transparent Exopolymeric Particles in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates in Lake Pavin. *Aquatic Sciences*. **72**: 245-253.

Chapitre III : Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

Préambule.....	45
The significance of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates (HNF) in Lake Pavin	46
1. Abstract	46
2. Introduction	47
3. Material and Methods	48
3.1. Study site and sampling.....	48
3.2. Phytoplankton analysis.....	49
3.3. Enumeration of nanoflagellates and total bacteria	49
3.4. TEP analysis and bacterial colonization.....	50
3.5. Statistical analysis.....	51
4. Results and Discussion	51
4.1. Environmental conditions	51
4.2. TEP distribution and bacterial colonization.....	52
4.3. HNF distribution and relationship with bacteria and TEP	56
5. Acknowledgements	59
6. References.....	59

Préambule

Comme nous l'avons souligné dans la synthèse bibliographique, les TEP sont présentes dans tous les milieux aquatiques et constituent une classe omniprésente de microparticules détritiques en milieu pélagique marin (Passow et Alldredge 1994, Engel 2004, Prieto *et al.* 2006, Bar-Zeev *et al.* 2009) et lacustre (Grossart *et al.* 1997, Carrias *et al.* 2002, Arruda Fatibello *et al.* 2004). Ces particules, dont la plupart ont une origine phytoplanctonique, jouent un rôle important dans le cycle biogéochimique des éléments et dans la structuration des réseaux trophiques aquatiques (Mari et Kjørboe, 1996, Passow *et al.* 2001, Sugimoto *et al.* 2007). Les TEP et leurs agrégats, de part leur structure physique et aussi chimique forment un environnement favorable aux microorganismes (Ploug et Grossart 2000, Passow 2002). Ainsi, différentes études se sont intéressés à la colonisation bactérienne de ces particules et également à la composition et l'activité enzymatique des bactéries associées aux TEP (Passow et Alldredge 1994, Worm et Søndergaard 1998, Carrias *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2006). Il a été avancé que ces micro-habitats riches en bactéries actives pouvaient stimuler la croissance des microorganismes qui vivent librement dans l'eau autour des particules (Simon *et al.* 2002). Nous avons donc émis l'hypothèse que les brouteurs principaux des bactéries, les nanoflagellés hétérotrophes (HNF), pourraient être favorisés dans les zones de forte colonisation bactérienne des TEP. Cette hypothèse a été testée par une étude printanière au lac Pavin, l'objectif principal étant de mieux comprendre l'importance des TEP dans la distribution verticale des bactéries et des protozoaires.

The significance of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates (HNF) in Lake Pavin

Mohamad- Bashir ARNOUS^{1,2}, Nicolas COURCOL^{1,2} and Jean-François CARRIAS^{1,2}

¹Clermont Université, Université Blaise Pascal, LMGE, BP 10448 F-63000 Clermont-Ferrand.

²laboratoire Microorganismes: Gé'nome et Environnement (LMGE), UMR CNRS, 6023, 63177 Aubière, France.

Parue dans "Aquatic Sciences, 2010, Vol.72, p. 245-253.

1. Abstract

The abundance, size distribution, and bacterial colonization of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) were examined in two consecutive years during the spring diatom development throughout the water column of the deep meromictic Lake Pavin, France. TEP concentrations ranged from 1.9 to 13.4 x10⁵ particles L⁻¹ and their distribution and size spectra indicated that these particles are the main factor in governing the transport of diatoms to the deep hypolimnion of the lake. The majority of TEP was colonized by bacteria that constituted 0.4 to 8.9% of total DAPI-stained bacteria. The intensity of bacterial colonization was strongly related to temperature and decreased with particle size. A more important colonization of small particles in the hypolimnion during thermal stratification suggested that bacterial colonisation also increased with the age of the particle. The abundance of heterotrophic nanoflagellates (HNF) was more significantly related to the density of particles than to the density of total bacteria and the intensity of bacterial colonization of TEP. Our results therefore suggest that TEP are a more important factor for HNF development than attached and free bacteria. We conclude that TEP are involved not only in sedimentation processes but also in the dynamics of bacteria and protozoa in freshwater pelagic environments.

Key-words: Transparent Exopolymeric Particles, bacteria, heterotrophic nanoflagellates, freshwater, Lake Pavin.

2. Introduction

Transparent Exopolymer Particles (TEP), first described by Wiebe & Pomeroy (1972), consist of a matrix of colloidal fibrils (Leppard & Burnison, 1990) produced from dissolved carbohydrate polymers secreted by phytoplankton and bacteria (Alldredge et al., 1993; Passow & Alldredge, 1994; Passow, 2000). TEP are ubiquitous and abundant in pelagic ecosystems and play a significant role in the biogeochemical cycling of elements and in structuring food webs (Passow & Alldredge, 1994; Mari & Burd, 1998; Mari, 1999; Passow, 2000; 2002; Engel et al., 2004). The physico-chemical characteristics of TEP enable them to attach to each other and coagulate with other particles (bacteria, phytoplankton and detritus) to promote the formation of organic aggregates (Passow et al., 2001; Simon et al., 2002; Carrias & Sime-Ngando, 2009), consequently influencing the sinking flux of lake or marine snow. Numerous studies have shown that TEP are natural constituents of the bulk particulate matter in pelagic systems (Passow & Alldredge, 1995; Mari & Kjørboe, 1996; Grossart et al., 1998; Berman & Viner-Mozzini, 2001; Arruda-Fatibello et al., 2004; Engel, 2004; Prieto et al., 2006; Sugimoto et al., 2007). Generally speaking, peak field-measured TEP concentrations are associated with phytoplankton blooms and related to chlorophyll *a* concentrations (Passow & Alldredge, 1994; Mari & Kjørboe, 1996; Grossart et al., 1997; Mari & Burd, 1998; Passow et al., 2001; Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006; Sugimoto et al., 2007), indicating that most of these particles are formed when phytoplankton release dissolved organic carbon (DOC).

Few studies have focused on the bacterial colonization of TEP, since the main research focus has been marine particles (Passow & Alldredge, 1994; Schuster & Hendl, 1995; Mari & Kjørboe, 1996; Worm & Søndergaard, 1998). According to many studies (Passow & Alldredge, 1994; Schuster & Herndl, 1995; Mari & Kjørboe, 1996; Worm & Søndergaard, 1998; Carrias et al., 2002), the vast majority of TEP contain attached bacteria representing 1-20% of the total bacterial count. Carrias et al. (2002) and Lemarchand et al. (2006) highlighted that TEP were more colonized by bacteria in the oligomesotrophic Lake Pavin than in the eutrophic Lake Aydat, indicating that TEP are particularly important for bacterial growth in environments with low nutrient loading. In addition, bacteria associated with TEP or larger organic particles (e.g. aggregates) frequently exhibit higher enzymatic activities than free-living cells in the surrounding water (Lemarchand et al., 2006; Carrias & Sime-

Ngando, 2009). Furthermore, particle-attached bacterial production generally increases with particle size (Simon et al., 2002).

Colonized TEP and organic aggregates are therefore considered as hotspot microenvironments, and the activity of the associated bacteria may well stimulate the growth rates of the free-living microorganisms in the vicinity of the particle (Simon et al., 2002). We therefore hypothesized that the main microbial grazers (such as heterotrophic nanoflagellates; HNF) would be considerably enhanced when high densities of colonized particles are present, resulting in high abundance of HNF. To test this hypothesis, we analyzed TEP distribution and colonization and determined free bacteria and HNF densities within the water column of the oligomesotrophic Lake Pavin. This lake was selected because it is deep enough to allow sampling of sinking particles, and because the local TEP are highly colonized by bacteria compared to other more eutrophic lake environments (Carrias et al., 2002, Lemarchand et al., 2006). We address the relationship between TEP densities, bacterial colonization, and HNF distribution and composition within this lake. Previous studies of bacteria/HNF relationships in Lake Pavin (Carrias et al., 1996) have clearly indicated that HNF are the main consumers of bacteria, but clear predator/prey relationships between the community densities have generally been imperceptible on a seasonal scale (Carrias et al., 1996, 1998). Our survey was conducted in April and May in two consecutive years during the spring diatom development (Amblard et al., 1992; Quiblier-Lloberas et al., 1996), characterized by high TEP concentrations (Carrias et al., 2002).

3. Material and Methods

3.1. Study site and sampling

The study was conducted in Lake Pavin (45° 29' 41" N, 02° 53' 12" E, altitude: 1197 m) in the Massif Central of France. Lake Pavin is a volcanic mountain lake characterized by a circular shape, high maximum depth ($Z_{\max} = 92$ m), and low surface and drainage basin areas (44 and 50 $\times 10^4$ m², respectively). It is a meromictic and dimictic oligomesotrophic lake with partial overturns. The depth of the euphotic zone varies between 20 and 30 m.

Water samples were collected in April and May in two consecutive years (2005 and 2006) with an 8-Liter Van Dorn bottle at the deepest point of the lake. On two dates in 2005,

sampling was done at a total of seven different depths: six in the mixolimnion (0.5, 5, 15, 20, 30 and 50 m depth) and one in the chemocline (58 m depth). In 2006, four depths (5, 15, 30 and 58 m) were sampled on three dates during spring. Water temperature and dissolved oxygen were measured *in situ* with a WTW probe (ProfiLine OXI 197). Based on depth variations in temperature and dissolved oxygen during summer thermal stratification, the epilimnion of Lake Pavin corresponds to the surface mixed layer from 0 m to 15 m depth, while the metalimnion is characterized by a steep temperature gradient until 20 m depth. The hypolimnion shows stable temperature values close to 4°C, extending from 20 to 55-60 m depth.

3.2. Phytoplankton analysis

Chlorophyll *a* concentrations were determined spectrophotometrically from samples collected on Whatman GF/C filters. Pigments were extracted in 90% acetone and concentrations were calculated in SCOR-UNESCO equations. Microscopic counts of phytoplankton were performed in Lugol's iodine-fixed samples using a Wild 40 inverted microscope at a magnification of ×400 (Utermohl, 1958).

3.3. Enumeration of nanoflagellates and total bacteria

Samples of bacteria (5 ml) and nanoflagellates (100 ml) were fixed with 2% (final concentration) formalin and 1% (final concentration) glutaraldehyde, respectively. Subsamples for bacterial counts were DAPI-stained (final concentration = 0.25µg ml⁻¹) and filtered onto 0.2-µm pore-size filters. Nanoflagellates were stained with primulin (Caron, 1983) and collected onto 0.8-µm pore-size black Nuclepore filters. The filters were mounted with a non-fluorescent immersion oil between a glass slide and a cover slip. Slides were stored at -20°C until counting, when they were examined under UV light at ×1100 magnification by epifluorescence microscopy in a darkroom using a LEICA FU microscope. Bacterial cell counts were made by inspecting 50-80 fields of view of the microscope. A total of 300 to 600 nanoflagellates from each slide was counted on several transects (SD <10%). HNF were identified to the level of genus, family or major taxonomic groups, according to previous studies on HNF in this lake (Carrias et al., 1996, 1998).

3.4. TEP analysis and bacterial colonization

Samples for particle counts were fixed with 1% (final concentration) formalin. Subsamples of 5 to 10 ml were double-stained with DAPI and the polysaccharide-specific Alcian Blue to enumerate TEP and TEP-attached bacteria (Passow & Alldredge, 1994). Subsamples were first DAPI-stained ($0.25 \mu\text{g ml}^{-1}$), filtered onto $0.2 \mu\text{m}$ Nuclepore filters, then re-stained with Alcian Blue. Staining was performed on damp filters for 5 sec using an aqueous solution of 0.03% Alcian Blue and 0.06% acetic acid. The filter was removed, mounted on a glass slide with immersion oil, and stored at -20°C until counting. Particle analyses were performed with an epifluorescence microscope (Leitz Laborlux) equipped with a 1250x lens, a Sony 3CCD color video camera (model DWC-950P), a Sony video recorder, and a Leica Q500 personal computer. Counts were performed on video images using Leica Qwin image analysis software (Carrias et al., 2002). Two to four transects were scanned for each filter under visible light at $\times 1.250$ magnification, and TEP (40 to 500 particles) were sized and counted. Bacteria associated with at least 40 TEP per slide were counted by switching between visible and UV light.

For each sampling date and depth in 2005, TEP were separated into 4 to 6 size classes according to equivalent spherical diameter (ESD), and the number of bacteria for each particle in each size classe was recorded. Size spectra of TEP were described by the power relation $N = k'd_p^{-\beta}$, where the constant k is dependent on particle concentration and β describes the size spectra. For each size interval, the particle concentration (dN) was normalized to the length of the interval (dp) and plotted against the arithmetic average length (l). The parameters k and β were estimated by regression (Mari & Kiørboe, 1996; Carrias et al., 2002). Significant ($P < 0.05$) regressions indicate that the size distribution of TEP follows a power law. A decrease in β signifies a reduction in the contribution of small particles. Assuming that TEP size spectra are caused by coagulation processes due to turbulent shear, the steady-state distribution of TEP would have a β coefficient equal to 3 (McCave, 1983). β values lower than 3 or non-significant relationships can be interpreted as indicating a non-steady-state distribution of the particles (Passow & Alldredge, 1994; Mari & Kiørboe, 1996). Bacterial colonization of TEP was estimated by the function $n = a \times d^b$, where n is the number of bacteria per particle, d is the ESD, and a and b are constants for a given sample obtained from log-log plots of n vs d (Mari & Kiørboe, 1996). These regressions were

statistically significant ($P < 0.05$) for the majority (85%) of our samples. Differences in values between depths and dates therefore indicate differences in bacterial colonization of TEP.

3.5. Statistical analysis

The effects of TEP and their degree of colonization on HNF densities and composition, and the effect of bacterial abundance on HNF, were analyzed by simple linear regression analysis using PAST software (Hammer et al., 2001). Data of abundance were log-transformed before analysis. Data of the relative contribution of HNF taxa to total HNF densities were arcsine-transformed.

4. Results and Discussion

4.1. Environmental conditions

In both years, April was a period of homogenous water column temperature with values close to 4°C. In May, the trend was towards thermal stratification with temperature values of ~10°C in the surface waters, allowing the distinction of the epilimnion (0-5 m depth, with an average temperature of 9.15 ± 1.9 °C), the metalimnion (5-10m, 5.5 ± 1.3 °C) and hypolimnion (4.2 ± 0.25 °C). Oxygen concentrations varied between 0.0 (60 m, April 2006) and 13.7 mg L^{-1} (5 m, May 2006), averaging $8.5 \pm 3.5 \text{ mg L}^{-1}$. The oxycline was situated between 57 and 59 m depth.

Chlorophyll *a* concentrations fluctuated from 0.6 to $12.5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ and values were frequently higher in 2005 than in 2006 (means: 5.9 ± 3.6 and $2.2 \pm 1.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ in 2005 and 2006, respectively), probably because of a greater contribution of chlorophytes during the first year. Peak chlorophyll *a* concentrations were recorded at 20 m and 15 m depth, with mean peaks reaching 10.9 and $3.7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ in 2005 and 2006, respectively. Spring Chl *a* concentrations in the euphotic zone were similar to those reported by Carrias et al. (2002) and Lemarchand et al. (2006). The lowest values were recorded at 58 m depth (means: 2.7 and $0.72 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ in 2005 and 2006, respectively).

Due to aphotic conditions and low temperature values, phytoplanktonic communities at 50 and 58 m depth were composed of decaying and sedimenting cells. Phytoplankton in every sample were largely dominated by diatoms (*Asterionella formosa*, *Aulacoseira italica*,

Cyclotella sp. and *Synedra ulna*), which accounted for 93% of total phytoplankton biomass without significant differences between depths and dates. Chlorophytes (*Ankistrodesmus gracilis*, *Chlorella* sp. and *Mesostigma* sp.) formed 6% of the phytoplankton biomass and were more numerous in 2005 than 2006. Other microalgae included *Rhodomonas* sp. and the cyanobacteria *Chroococcus* sp., which accounted for less than 1% of phytoplanktonic biomass in both years. The composition and community structure of phytoplankton in spring were comparable to those reported in earlier studies (Amblard & Bourdier, 1990; Carrias et al., 1998), highlighting the strong reproducibility of biological successions in this lake. Bacterial densities ranged from 2.2 to 9.5 x 10⁶ bacteria ml⁻¹. Mean values for 2005 and 2006 were 5.6 ± 1.3 x 10⁶ bacteria ml⁻¹ and 4.8 ± 2.2 x 10⁶ bacteria ml⁻¹, respectively. In the euphotic layers (< 30 m depth), bacteria were more numerous in May than in April as the thermal stratification established itself. As a result, bacterial abundances tended to decrease with depth during May, especially in 2006, and values were significantly related to chlorophyll *a* concentrations ($r^2 = 0.26$, $P < 0.01$).

4.2. TEP distribution and bacterial colonization

TEP densities fluctuated between 1.9 x10⁵ and 13.4 x10⁵ particles L⁻¹ during this study (annual means: 4.7 ± 2.2 x10⁵ and 6.7 ± 3.7 x10⁵ particles L⁻¹ in 2005 and 2006, respectively). These values were 1.5 to 2.5-fold higher than previously reported densities in this lake (Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006) and in marine (Passow, 2002; Engle, 2004; Prieto et al., 2006; Claquin et al., 2008) and freshwater (Berman et al., 2001) environments. As noted by several authors (Alldredge et al., 1993; Kiørboe et al., 1994; Passow and Alldredge, 1994; Logan et al., 1995; Grossart et al., 1997), high TEP densities are associated with high quantities of sinking material from the bloom of large-size diatoms occurring at the time. Between-year differences in densities were only noticeable in the euphotic zone during May (Fig. 10), with highest densities in the metalimnion in 2006 (5.7 and 13.4 x10⁵ particles L⁻¹ at 15 m in 2005 and 2006, respectively). In Lake Constance, Logan et al. (1995) and Grossart et al. (1997) reported that high numbers of TEP can lead to rapid aggregation and sedimentation of diatom blooms during spring and summer, but only during periods of diatom decomposition. In Lake Pavin, the sedimentation period of the spring diatom bloom

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

extends from mid-April to the end of May, with densities of sinking cells at 15 and 30 m depth peaking in May (Amblard & Bourdier, 1990).

The high densities of TEP in May 2006 were related to low chlorophyll *a* values but high diatom densities, indicating that decaying cells were preponderant. In contrast, high metalimnetic values of chlorophyll *a* were noted in May 2005, while TEP densities numbers were two-fold lower than in 2006. Therefore, despite the low number of sampling dates, our results suggest that the diatom bloom appeared earlier in 2006, leading to high TEP densities in the metalimnion in May. TEP density values were lowest in the deepest part of the mixolimnion, while phytoplankton biomass was relatively high, signifying that TEP are mainly produced in the upper layers of the lake by cells that are sinking but still alive (Amblard & Bourdier, 1990). TEP are occasionally recorded in high numbers at the oxic-anoxic boundary in Lake Pavin (58-60 m depth, unpublished data), where they are probably produced by the large quantities of DOC from the monimolimnion (Alberic et al. 2000). Berman and Viner-Mozzini (2001) also found high concentrations of TEP in the bottom of Lake Kinneret from September to December 1999. These particles originated from resuspended material from the sediment surface of this shallow lake.

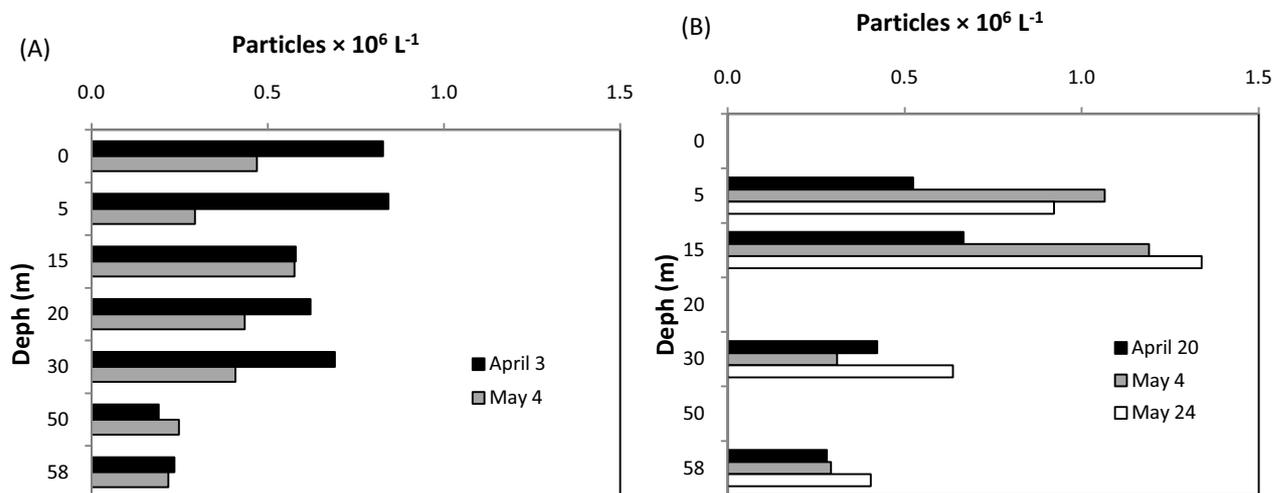


Figure 10. Spatiotemporal distribution of the densities of TEP in 2005 (A) and 2006 (B)

Analysis of the TEP size spectra indicated that the particles followed a non-steady-state distribution during the study period. Regressions between the concentration of particles and their average length for each size interval were only significant for 8 of the 26 samples. The β

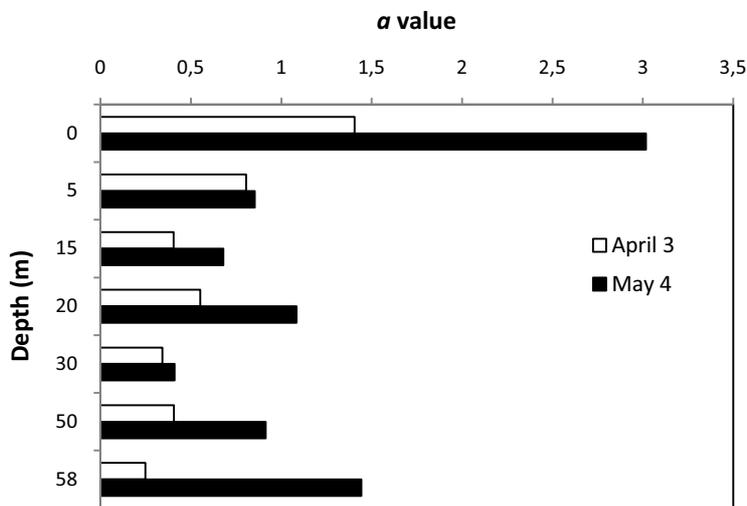
values calculated from significant relationships were lower than 3 and ranged from 0.0 to 1.46 (mean: 0.74 ± 0.49). According to Passow & Alldredge (1994), the lack of significant relationship or a size distribution with a low β value could indicate TEP coagulating with diatom cells. Our results for TEP size distribution are therefore consistent with the distribution of phytoplankton and TEP densities through the water column, confirming that TEP are the main factor driving the transfer of diatoms to the bottom of the lake during May. Other processes such as bacterial utilization or zooplankton activities can also affect the size distribution of TEP (Passow & Alldredge, 1994). Because they are extremely flexible, TEP can pass through pores many times smaller than their apparent size, leading to an underestimation of the density of the smallest particles. To minimize this issue, the size spectra of the particles have to be evaluated by regression procedures.

Double-staining with DAPI and Alcian Blue indicated that the majority of the particles ($97.3 \pm 4.2\%$) were colonized by bacteria. TEP-associated bacteria represented 0.4 to 8.9% of total DAPI-stained bacteria (Mean: $2.3 \pm 1.1 \%$). These values are higher than those estimated previously in this lake (Carrias et al., 2002), but within the range of values reported from marine (Passow & Alldredge, 1994; Schuster & Herndl, 1995; Mari & Kiørboe, 1996) and other freshwater (Worm & Søndergaard, 1998) environments, i.e. generally from 0.5 to 25%. Estimation of the colonization coefficient using the power law relationship $n = a \times d^b$ indicated that the constant a averaged 0.90 ± 0.72 (range: 0.25 to 3.02; Fig. 2). The mean value estimated in spring 2000 was slightly lower (0.59 ± 0.33 ; Carrias et al., 2002), confirming that TEP were more heavily colonized in this study. In April, the bacterial colonization of TEP was low since the TEP were recently formed by diatoms and may have had insufficient nitrogen-rich substrates like amino acids (Decho, 1990). The colonization decreased with depth as temperature and TEP densities.

The pattern of colonization was different in May, with higher values at each depth (Fig. 11). Colonization of TEP, expressed by the constant a , was therefore highly related to temperature ($r^2 = 0.67$, $P < 0.001$). The stronger May-time colonization of the particles at the 50 and 58 m depths is surprising, since there was no change in temperature in these layers between the two sampling dates. A probable explanation is that the majority of TEP are older in the bottom of the hypolimnion during May, when thermal stratification became stable, and new particles are mainly produced by phytoplankton in the upper part of the

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

mixolimnion, thus triggering stronger colonization of the particles in the bottom of the hypolimnion despite the low and constant temperature values. On average, the number of bacteria per unit area of particles decreases with particle size (Table 4), in agreement with the majority of studies (Passow & Alldredge, 1994; Schuster & Herndl, 1995; Mari & Kiørboe, 1996; Worm & Søndergaard, 1998; Carrias et al., 2002). Differences in the bacterial colonization of TEP size fractions (Table 4) clearly indicated that the smallest fractions (2-5 μm and 5-10 μm) were more heavily colonized in May, especially at 50 and 58 m. Assuming that smaller particles are older (Passow, 2002), we conclude that bacterial colonization of TEP is not only dependent on water temperature but also dependent on the age of the



particle.

Figure 11. Vertical distribution of bacterial colonization of TEP expressed by the coefficient a according to the power law $n = a \times d^b$ (See text for explanation).

Table 4. Average values for bacterial colonization of size fractions of TEP (Bacteria per unit area, N per μm^2) in Lake Pavin in spring 2005.

Depth	April 3					May 4				
	2-5 μm	5-10 μm	10-15 μm	15-20 μm	20-50 μm	2-5 μm	5-10 μm	10-15 μm	15-20 μm	20-50 μm
0 m	0.38	0.27	0.07	0.03	0.04	0.69	0.34	0.18	0.11	0.06
5 m	0.39	0.22	0.17	0.12	0.10	0.28	0.28	0.25	0.13	0.06
15 m	0.28	0.23	0.20	0.14	0.16	0.30	0.29	0.16	0.14	0.10
20 m	0.34	0.15	0.11	0.11	0.09	0.37	0.21	0.15	0.11	0.05
30 m	0.18	0.14	0.10	0.08	0.06	0.35	0.20	0.18	0.14	0.18
50 m	0.17	0.12	0.09	0.05	0.05	0.43	0.23	0.14	0.10	0.09
58 m	0.14	0.09	0.06	0.06	0.04	0.37	0.43	0.27	0.15	0.07

4.3. HNF distribution and relationship with bacteria and TEP

Average HNF abundances (range: 0.19 to 2.9×10^3 cell ml⁻¹, mean: $1.02 \pm 0.8 \times 10^3$ cell ml⁻¹) were 4-fold higher in the euphotic layer (0 to 20 m depth, mean: $2 \pm 0.65 \times 10^3$ cell ml⁻¹) than in the aphotic hypolimnion (30 to 58 m depth, mean: $0.5 \pm 0.12 \times 10^3$ cell ml⁻¹). This difference in HNF densities with depth was particularly marked in 2006 due to the high densities of HNF protozoa at 5 and 15 m depth (Fig. 12). Between-date differences in HNF abundances were also more pronounced during the second year. According to previous studies (Carrias et al., 1998, 2001), May is a period of high HNF development in Lake Pavin. Generally, the spring peak of HNF during the diatom bloom is typical for temperate freshwater environments (Nagata, 1988; Weisse, 1991; Pick & Hamilton, 1994). The community was largely dominated by a small (2-4 µm-length) unflagellated taxon during the mixing period, representing 81% of the total HNF density. This taxon was less numerous during the establishment of thermal stratification in May (52% of the total HNF densities), when *Monas*-like cells accounted for 34% of HNF densities, and its contribution to total densities decreased markedly with depth (Fig. 13). Other HNF included *Kathablepharis* ($9.1 \pm 4.4\%$ of total HNF densities), choanoflagellates and bodonids (1 ± 0.5 and $3 \pm 1.2\%$ of total HNF, respectively).

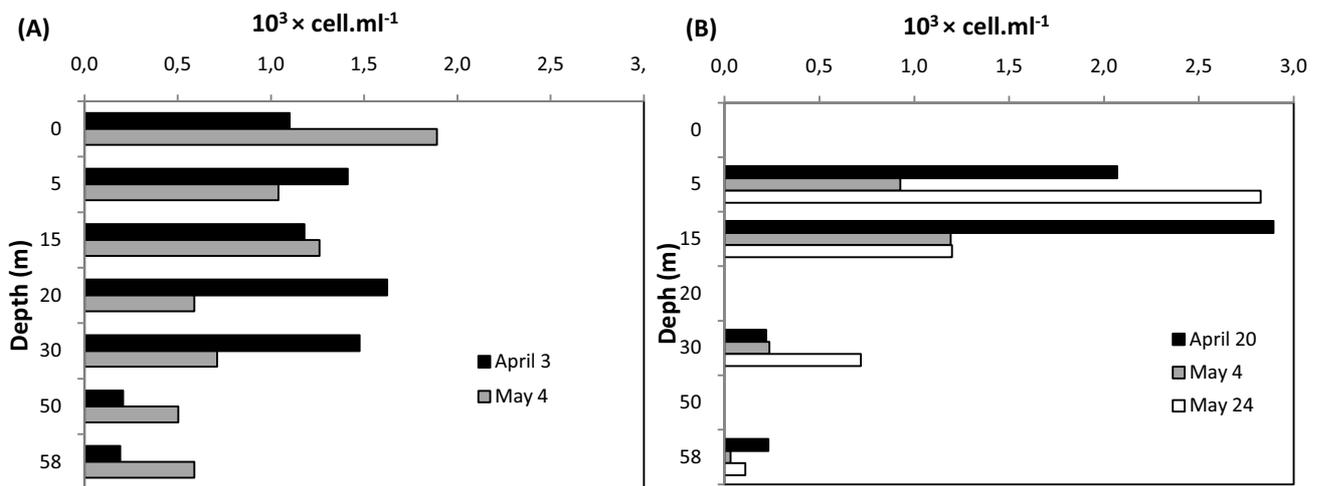


Figure 12. Distribution of HNF densities in 2005 (A) and 2006 (B).

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

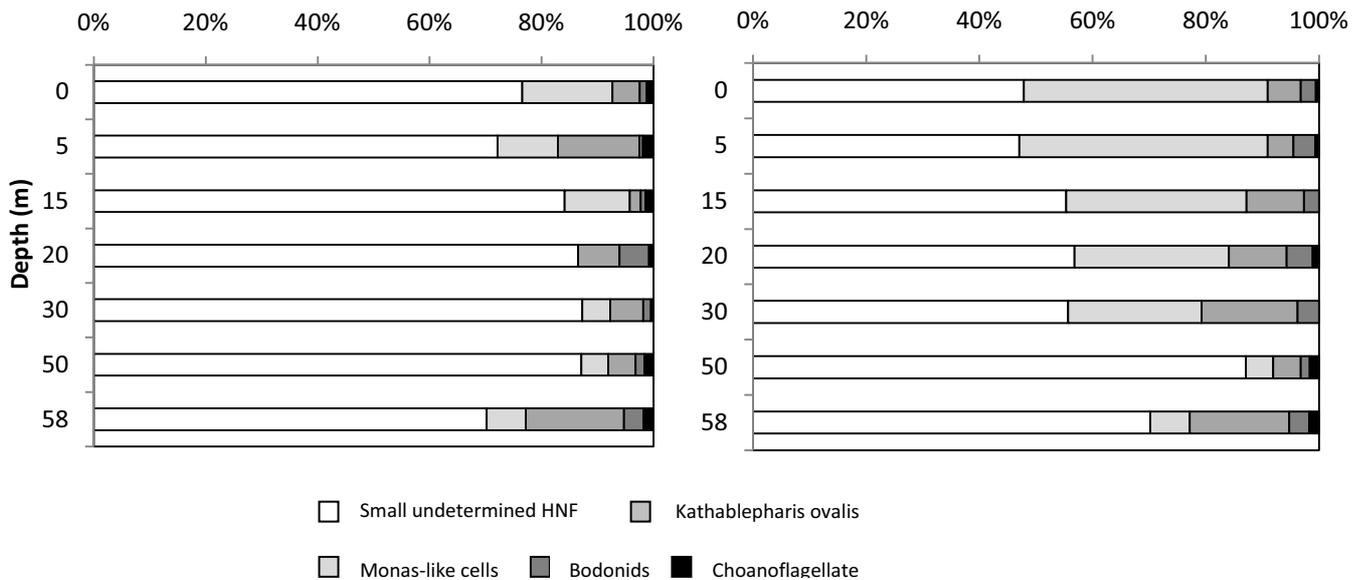


Figure 13. Relative contribution (%) of different HNF taxa to total HNF abundance in April 2005 (A) and May 2005 (B).

As noted for phytoplankton, the spring community structure of HNF was comparable to that recorded in previous studies (Carrias et al., 1998, 2001) as well as in other pelagic environments (Arndt et al., 2000). The vast majority of HNF consume bacteria and, due to their high densities, HNF are considered the main bacterivores in pelagic food webs (Sanders et al., 1992; Carrias et al., 1996; Simek et al., 2000; Sherr & Sherr, 2002). Assuming that the activity of TEP-associated bacteria may stimulate the growth rates of free-living bacteria in the vicinity of the particle (Simon et al., 2002), we hypothesized that HNF abundances could be related to TEP densities and to particle colonization patterns. HNF densities (total or taxon-specific) were, however, uncorrelated to particle colonization as expressed by coefficient α . In both years, HNF densities were highly correlated to TEP abundances, while significant bacteria/HNF correlation was only detected in 2006 (Fig. 14). The lack of within-lake relationships between bacteria and HNF has been reported in many studies (Carrick & Fahnenstiel, 1989; Nagata, 1988; Weisse, 1991; Bennet et al., 1990; Pick & Hamilton, 1994; Carrias et al., 1998) and the seasonal succession of freshwater HNF is usually more related to the seasonal succession of phytoplankton than of bacteria (Güde, 1989; Pick & Hamilton, 1994). In assessing factors that can regulate the dynamics of HNF, the structure of the food web is often expected to have a major impact. In particular, the top-down impact of

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

predators (ciliates and metazooplankton) is deemed an important control mechanism of the seasonal dynamics of free-living HNF in lakes (Jürgens, 1994; Weisse, 1990; Carrias et al. 1998, 2001). To our knowledge, the role of particles has never been evaluated, and there are still too few studies on the interactions between protozoans and TEP.

Our results suggest freshwater HNF are at least partially dependent on TEP densities. Particle distribution explained 63% and 61% of the variability in HNF abundance in 2005 and 2006 (Fig. 14), respectively. We thus conclude that TEP is a relevant factor of HNF distribution during the spring diatom bloom in Lake Pavin. Based on studies of organic aggregates in pelagic environments, it has been hypothesized that particles may be involved in the growth of certain HNF species in pelagic environments by grazing on particle-associated bacteria (Caron et al., 1982, 1986). In Lake Pavin, bodonids, *Monas*-like cells and the small-sized dominant taxa are potentially able to feed on attached bacteria. Although their densities were related to TEP densities, the distribution of these taxa was not related to bacterial colonization of the particles. This suggests that TEP play a different role in the control of HNF. Given that they exhibit the properties of gels (Passow, 2002), TEP may constitute a pelagic microhabitat protecting HNF against ciliate and metazoan predation, resulting in higher HNF densities during spring plankton development. In addition, the smallest TEP may be an alternative food resource for HNF (Sherr, 1988) during low bacterial densities and/or periods of strong competition between bacterivorous taxa. Oligotrichous ciliates could represent important HNF competitors during spring in Lake Pavin (Carrias et al., 2001). These assumptions are highly speculative, and further data are required from additional pelagic environments with varying HNF abundance, TEP abundance and associated bacteria in order to provide deeper insight into the role of TEP in the dynamics of heterotrophic nanoflagellates.

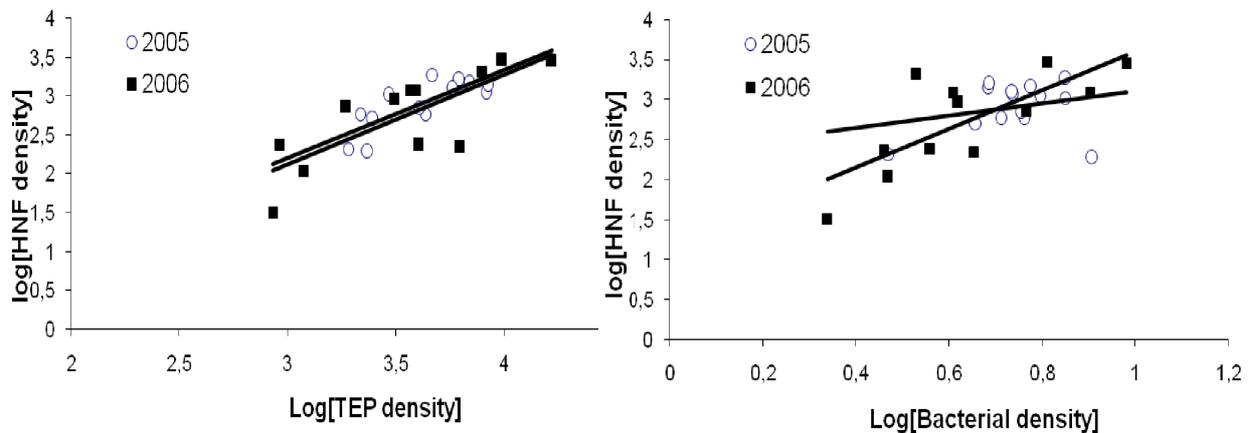


Figure. 14. Response of HNF density to increasing TEP abundance (A) and increasing bacterial abundance (B) for the 2 years studies. The regression function for (A, 2005) is $y = -1.18 + 1.13x$, $r^2 = 0.63$, $P < 0.001$; for (A, 2006) $y = -1.37 + 1.16x$, $r^2 = 0.61$, $P < 0.001$; for (B, 2005) $y = 2.34 + 0.76x$, $r^2 = 0.06$, $P = 0.36$; for (B, 2006) $y = -1.19 + 2.41x$, $r^2 = 0.56$, $P = 0.005$.

5. Acknowledgements

D Sargos and J-C Demeure are acknowledged for field and technical assistance. MBA was supported by a doctoral fellowship from the University of Damascus (Ministry of higher education), Syria. We are grateful to two anonymous referees for helpful comments on an earlier version of this manuscript. This study was supported by CNRS UMR 6023.

6. References

- Albéric, P., E. Viollier, D. Jézéquel, C. Grosbois and G. Michard, 2000. Interactions between trace elements and dissolved organic matter in the stagnant anoxic deep layer of a meromictic lake. *Limnology and Oceanography* **45**: 1088-1096.
- Allredge, A. L., U. Passow and B. E. Logan, 1993. The abundance and significance of a class of large transparent organic particles in the ocean. *Deep Sea Research I* **40**: 1131-1140.
- Amblard, C. and G. Bourdier, 1990. The spring bloom of the diatom *Melosira italica* subsp. *subarctica* in lake Pavin: biochemical, energetic and metabolic aspects during sedimentation. *Journal of Plankton Research* **12**: 645-660.
- Amblard, C., S. Rachiq and G. Bourdier, 1992. Photolithotrophy, photoheterotrophy and chemoheterotrophy during spring phytoplankton development (Lake Pavin). *Microbial Ecology* **24**: 109-123.

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

- Arndt, H., D. Dietrich, B. Auer, E. J. Cleven, T. Gräfenhan, M. Weitere and A. P. Mylnikov, 2000. Functional diversity of heterotrophic flagellates in aquatic ecosystems. In: Leadbeater, B.S.C. and Green, J.C., Editors, 2000. *The Flagellates*, Taylor and Francis, London, pp. 240-268.
- Arruda Fatibello, S. H. S., A. A. Henriques Vieira and O. Fatibello-Filho, 2004. A rapid spectrophotometric method for the determination of transparent exopolymer particles (TEP) in freshwater. *Talanta* **62**: 81–85.
- Bennett, S. J., R. W. Sanders and K. G. Porter, 1990. Heterotrophic, autotrophic, and mixotrophic nanoflagellates: Seasonal abundances and bacterivory in a eutrophic lake. *Limnology and Oceanography* **35**: 1821–1832.
- Berman, T. and Y. Viner-Mozzini, 2001. Abundance and characteristics of polysaccharide and proteinaceous particles in Lake Kinneret. *Aquatic Microbial Ecology* **24**: 255–264.
- Caron, D. A., 1983. A technique for the enumeration of photosynthetic and heterotrophic nanoplankton using epifluorescence microscopy, and a comparison with other procedures. *Applied and Environmental Microbiology* **46**: 491-498.
- Caron, D. A., P. G. Davis, L. P. Madin and J. Mc. N. Sieburth, 1982. Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoans in oceanic macroaggregates. *Science* **218**: 795–797.
- Caron, D. A., P. G. Davis, L. P. Madin and J. Mc. N. Sieburth, 1986. Enrichment of microbial populations in macroaggregates (marine snow) from surface waters of the North Atlantic. *Journal of Marine Research* **44**:643–565.
- Carrias, J. F. and T. Sime-Ngando, 2009. Bacteria attached to Surfaces. In: Gene E. Likens, (Editor) *Encyclopedia of inland waters*. Volume 3, pp. 182-192 Oxford: Elsevier.
- Carrias, J. F., C. Amblard and G. Bourdier, 1996. Protistan bacterivory in an oligomesotrophic lake: importance of attached ciliates and flagellates. *Microbial Ecology* **31**: 249-268.
- Carrias, J. F., C. Amblard and G. Bourdier, 1998. Seasonal dynamics of free and attached heterotrophic nanoflagellates in an oligomesotrophic lake. *Freshwater Biology* **39**: 101-111.
- Carrias, J. F., J. P. Serre, T. Sime-Ngando and C. Amblard, 2002. Distribution, size, and bacterial colonization of pico and nano-detrital organic particles (DOP) in two lakes of different trophic status. *Limnology and Oceanography* **47**: 1202-1209.
- Carrias, J. F., A. Thouvenot, C. Amblard and T. Sime-Ngando, 2001. Dynamics and growth estimates of planktonic protists during early spring in Lake Pavin (France). *Aquatic Microbial Ecology* **24**: 163-174.
- Carrick, H. J. and G. L. Fahnenstiel, 1989. Biomass, size structure, and composition of phototrophic and heterotrophic nanoflagellate communities in lakes Huron and Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **46**: 1922-1928.
- Claquin, P., I. Probert, S. Lefebvre and B. Veron, 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquatic Microbial Ecology* **51**: 1–11.
- Decho, A. W., 1990. Microbial exopolymer secretion in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. **28**: 73–153.
- Engel, A., 2004. Distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in the northeast Atlantic Ocean and their potential significance for aggregation processes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **51**: 83–92.
- Engel, A., S. Thomas, U. Riebesell, E. Rochelle-Newall and I. Zondervan, 2004. Polysaccharide aggregation as a potential sink of marine dissolved organic carbon. *Nature* **428**: 929–932.
- Grossart, H. P., M. Simon and B. E. Logan, 1997. Formation of macroscopic organic aggregates (lake snow) in a large lake: the significance of transparent exopolymer particles (TEP), phyto- and zooplankton. *Limnology and Oceanography* **42**:1651–1659.

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

- Grossart, H. P., T. Berman, M. Simon and K. Pohlmann, 1998. Occurrence and microbial dynamics of macroscopic organic aggregates (lake snow) in Lake Kinneret, Israel, in fall. *Aquatic Microbial Ecology* **14**: 59–67.
- Güde, H., 1989. The role of grazing on bacteria in plankton succession. In: U. Sommer (Ed.). *Plankton Ecology*. Springer-Verlag: 337-364.
- Hammer, O., D. A. T. Harper and P. D. Ryan, 2001. PAST 1.23, Paleontological Statistics software package for education and data analysis, http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm, *Palaeontologia Electronica* **4**: 1- 9.
- Jürgens, K. 1994. Impact of *Daphnia* on planktonic microbial food webs - A review. *Marine Microbial Food Webs* **8**: 295-324.
- Jürgens, K., J. Pernthaler, S. Schalla and R. Amann, 1999. Morphological and compositional changes in response to enhanced protozoan grazing. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 1241–1250.
- Kjørboe, T., C. Lundsgaard, M. Olesen and J. L. S. Hansen, 1994. Aggregation and sedimentation processes during a spring phytoplankton bloom: a field experiment to test coagulation theory. *Journal of Marine Research* **52**: 297–323.
- Leppard, G. G. and B. K. Burnison, 1990. Transmission electron microscopy of the natural organic matter of surface waters. *Analytica Chimica Acta* **232**: 107-121.
- Lemarchand, C., L. Jardiller, J. F. Carrias, M. Richardot, D. Debroas, T. Sime-Ngando and C. Amblard, 2006. Community composition and activity of prokaryotes associated to detrital particles in two contrasting lake ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology* **57**: 442-451.
- Logan, B. E., U. Passow, A. L. Alldredge, H. P. Grossart and M. Simon, 1995. Mass sedimentation of diatom blooms as large aggregates is driven by coagulation of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research II* **42**: 203–214.
- Mari, X., 1999. Carbon content and C:N ratio of transparent exopolymeric particles (TEP) produced by bubbling exudates of diatoms. *Marine Ecology Progress Series* **183**: 59–71.
- Mari, X. and A. Burd, 1998. Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Marine Ecology Progress Series* **163**: 63–76.
- Mari, X. and T. Kjørboe, 1996. Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the Kattegat. *Journal of Plankton Research* **18**: 969–986.
- McCave, I. N., 1983. Particulate size spectra, behavior and origin of nepheloid layers over the Nova Scotian Continental Rise. *Journal of Geophysical Research* **88**: 7647–7666.
- Nagata, T., 1988. The microflagellate-picoplankton food linkage in the water column of lake Biwa. *Limnology and Oceanography* **33**: 504-517.
- Passow, U., 2000. Formation of Transparent Exopolymer Particles, TEP, from dissolved precursor material. *Marine Ecology Progress Series* **192**: 1–11.
- Passow, U., 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in the aquatic environments. *Progress in Oceanography* **55**: 287-333.
- Passow, U. and A. L. Alldredge, 1994. Distribution, size, and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Marine Ecology Progress Series* **113**: 185–198.
- Passow, U. and A. L. Alldredge, 1995. Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: The role of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research II* **42**: 99–109.
- Passow, U., R. F. Shipe, A. Murray, D. K. Pak, M. A. Brzezinski and A. L. Alldredge, 2001. Origin of transparent exopolymer particles (TEP) and their role in the sedimentation of particulate matter. *Continental Shelf Research* **21**: 327–346.

Chapitre III: Importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans la distribution verticale des bactéries et des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) dans le lac Pavin

- Pick, F. R. and P. B. Hamilton, 1994. A comparison of seasonal and vertical patterns of phagotrophic flagellates in relation to bacteria and algal biomass in temperate lakes. *Marine Microbial Food Webs* **8**: 201-215.
- Prieto, L., G. Navarro, A. Cozar, F. Echevarria and C. M. Garcia, 2006. Distribution of TEP in the euphotic and upper mesopelagic zones of the southern Iberian coasts. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **53**: 1314–1328.
- Quiblier, C., G. Bourdier, C. Amblard and D. Pepin, 1996. Impact of grazing on phytoplankton in Lake Pavin: contribution of different zooplankton groups. *Journal of Plankton Research* **18**: 305-322.
- Sanders, R. W., D. A. Caron and U. G. Berninger, 1992. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and freshwaters: an inter-ecosystem comparison. *Marine Ecology Progress Series* **86**:1-14.
- Schuster, S. and G. J. Herndl, 1995. Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea. *Marine Ecology Progress Series* **124**: 227–236.
- Sherr, E. B., 1988. Direct use of high molecular weight polysaccharide by heterotrophic flagellates. *Nature* **335**: 348 – 351.
- Sherr, E. B. and B. F. Sherr. 2002. Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* **81**: 293-308.
- Simek, K., K. Jürgens, J. Nedoma, M. Comerma and J. Armengol, 2000. Ecological role and bacterial grazing of *Halteria* sp.: small oligotrichs as dominant pelagic ciliate bacterivores. *Aquatic Microbial Ecology* **22**: 43–56.
- Simon, M., H. P. Grossart, B. Schweitzer and H. Ploug, 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* **28**: 175–211.
- Sugimoto, K., H. Fukuda, M. A. Baki and I. Koike, 2007. Bacterial contributions to formation of transparent exopolymer particles (TEP) and seasonal trends in coastal waters of Sagami Bay, Japan. *Aquatic Microbial Ecology* **46**: 31–41.
- Utermöhl H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik. *Mitt. Internationaler Verein Limnologie* **9**: 1–38.
- Wiebe, W. J., and L. R. Pomeroy, 1972. Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: A microscopic study. In: Melchior-Santolini, U., Hopton, J. W. (eds.) *Detritus and role in the aquatic ecosystem. Memorie 1st. ital. Idrobiol* **24**: 325-352.
- Weisse, T., 1990. Trophic interactions among heterotrophic microplankton, nanoplankton, and bacteria in Lake Constance (FRG). *Hydrobiologia* **191**: 111-122.
- Weisse, T., 1991. The annual cycle of heterotrophic freshwater nanoflagellates: role of bottom-up versus top-down control. *Journal of Plankton Research* **13**: 167-185.
- Worm, J. and M. Søndergaard, 1998. Alcian Blue-stained particles in an eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* **20**: 179-186.

Chapitre : IV

Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

Arnous, M.B., Latour, D., Thounenot, A. et Carrias, J.F. Seasonal distribution of Transparent Exopolymer particles (TEP) in two lakes with different trophic status. Publication soumise à Hydrobiologia

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

Préambule.....	65
Seasonal distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in two lakes with different trophic status	66
1. Abstract.....	66
2.Introduction	67
3.Material and methods.....	69
3.2. Phytoplankton analysis.....	69
3.3. Total bacteria count.....	70
3.4. Determination of TEP	70
3.5. Statistical analyses.....	72
4.Results.....	72
4.1. Ambient environmental conditions.....	72
4.2. Differences in biological parameters and TEP characteristics between the lakes....	73
4.3. Seasonal evolution of TEP, phytoplankton, and bacteria.....	75
5.Discussion.....	77
6.Acknowledgments.....	81
7.References	81

Préambule

La production des TEP est habituellement associée au phytoplancton et leurs concentrations sont souvent liées à celles de la chlorophylle *a*. Généralement, les concentrations maximales en TEP sont associées aux efflorescences du phytoplancton, particulièrement celles dominées par des diatomées (Passow et Alldredge 1994, Passow *et al.* 2001, Carrias *et al.* 2002, Arnous *et al.* 2010), mais aussi par les dinoflagellées (Berman et Viner-Mozzini 2001), les cyanobactéries (Grossart *et al.* 1998) et les cryptophycées (Kozłowski et Vernet 1995). En effet, cette production de TEP dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce phytoplanctonique dominante et son état physiologique, et les facteurs physico-chimiques (Passow 2002). En lien étroit avec la distribution du phytoplancton, le statut trophique du milieu influence la distribution des TEP, la production de ces dernières augmentant avec l'eutrophisation du milieu. Si les relations entre TEP et phytoplancton ont été assez bien étudiées en milieu marin, les études en eau douce sont rares. Les résultats présentés dans le chapitre précédant (chapitre 3) nous ont permis de caractériser la distribution verticale des TEP pendant l'efflorescence printanière des diatomées au lac Pavin. Afin de compléter et enrichir notre compréhension sur la dynamique des TEP en milieu lacustre, nous analysons dans ce chapitre la distribution annuelle de l'abondance, de la concentration et du spectre de taille des TEP dans deux lacs de niveaux trophiques différents: le lac Pavin, oligo-mésotrophe et le réservoir hypereutrophe de Grangent. Les bactéries ont été aussi prises en considération. Ces deux milieux ont été sélectionnés pour leur différence marquée dans la composition phytoplanctonique.

Seasonal distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in two lakes with different trophic status

Mohamad Bashir ARNOUS^{1, 2}, Delphine LATOUR^{1, 2}, Antoine THOUVENOT³ and Jean-François CARRIAS^{1, 2*}

¹Clermont Université, Université Blaise Pascal, BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France.

²Laboratoire Microorganismes: Génome et Environnement (LMGE), UMR CNRS 6023, 3177 Aubière, France.

³ATHOS Environnement, Bâtiment de Biologie C, 24 Avenue des Landais 63177 Aubière, France

Soumis à *Hydrobiologia*

1. Abstract

The distribution of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) in two lakes with different trophic status (Lake Grangent, hypereutrophic and Lake Pavin, mesotrophic) located in the Massif Central, France, was analyzed over a seasonal cycle. We used colorimetric and microscopic methods to determine the concentration, the abundance and surface area, and the size spectra of TEP. The abundance and the total surface area of the particles were significantly higher in the hypereutrophic Lake Grangent than in the mesotrophic Lake Pavin. TEP abundance in this lake (range: 0.8 to 17.5×10^6 particles.L⁻¹, mean: $3.5 \pm 3.4 \times 10^6$ particles.L⁻¹) was unrelated to TEP concentration (range: 287 to 2502 $\mu\text{gXeq.L}^{-1}$, mean: 1029 ± 489 $\mu\text{gXeq.L}^{-1}$). Maximum TEP density in Lake Pavin was recorded during the spring diatom bloom, while TEP concentration peaked in late summer when the phytoplankton community was largely dominated by small-size chlorophytes with an abundant polysaccharide cell coating. Peaks in bacterial abundance in Lake Pavin follow the maximum concentrations in TEP. In the hypereutrophic Lake Grangent, TEP abundance (range: 2.5 to 36.4×10^6 particles.L⁻¹, mean: $10.9 \pm 8.8 \times 10^6$ particles.L⁻¹) and TEP concentrations (range: 552 to 3552 $\mu\text{gXeq.L}^{-1}$, mean: 1641 ± 1076 $\mu\text{gXeq.L}^{-1}$) revealed a similar seasonal evolution and maximum values appeared during the summer development of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Per cell production of TEP, expressed by the

ratio between TEP concentration and chlorophyll *a* concentration, was significantly higher in the less productive lake and the analysis of the size spectra of the particles indicated a greater proportion of small particles in this lake. Our results therefore suggest that TEP are more significant for microbial development and aggregates formation in the less productive environment.

Key words: transparent exopolymer particles, phytoplankton, freshwater, lakes.

2. Introduction

Since the development of methods to quantify transparent exopolymer particles (TEP, see Alldredge et al., 1993), it has been shown that these gel-particles are not only ubiquitous and abundant in pelagic environments but also play a significant role in the biogeochemical cycling of elements and in structuring the food web (Passow & Alldredge, 1994; Mari & Burd, 1998; Mari, 1999; Passow, 2000; 2002; Engel et al., 2004). TEP are generated abiotically from polysaccharide precursors released from phytoplankton and bacteria as dissolved and colloidal matter (Zhou et al., 1998; Passow, 2000) and constitute an important step in the conversion of dissolved to particulate organic carbon. TEP enhance the aggregation and sedimentation of particles, especially during phytoplankton blooms (Alldredge et al., 1993; Logan et al., 1995; Engel et al., 2004), and, owing to their high carbon content, they contribute significantly to carbon export from the surface to the sediment of pelagic environments (Passow et al., 2001; Beauvais et al., 2003; De Vincente et al., 2009).

In situ TEP production has been associated with phytoplankton, and TEP densities are often related to chlorophyll *a* concentrations (Passow & Alldredge, 1995; Mari & Kiørboe, 1996; Grossart et al., 1997; Passow et al., 2001; Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006; Sugimoto et al., 2007). Given that TEP production is primarily controlled by the availability of nanometer-sized TEP precursors and that diatoms can produce large amounts of these precursors in culture and field conditions, diatoms are considered as the main organisms that produce TEP (Kiørboe and Hansen, 1993; Passow & Alldredge, 1994; Grossart et al., 1997; Passow et al., 2001). High concentrations of these particles have also been recorded during blooms dominated by marine dinoflagellates (Passow & Alldredge, 1994; Alldredge et al., 1998), cryptomonads (Passow et al., 1995), and freshwater cyanobacteria (Grossart et al., 1998). These latter are able to produce large amounts of extracellular polymeric

substances, mainly polysaccharides, and so significantly contribute to the TEP pool (Bertocchi et al., 1990; Gloaguen et al., 1995). The physiological state of phytoplankton (Passow & Alledredge, 1995, Grossart et al., 2006), irradiance (Hong et al., 1997), and physical factors, including wind-stimulated shear (Grossard et al., 1998; Beauvais et al., 2006) and bubbling (Zhou et al., 1998), also influence TEP production. In situ production of TEP by bacteria appears to be negligible (Schuster & Herndl, 1995) while large amounts of TEP or TEP-precursors are generated by cultured bacteria (Grossart, 1999). Although microorganisms appear to be the main producers of TEP, zooplankton may also contribute to the formation of TEP (Passow, 2002) and can shift the size distribution of the particles (Prieto et al. 2001).

Assessments of the origin and formation of TEP and their relationships with phytoplankton are well documented in marine environments (Passow and Alldredge, 1994; Passow et al., 1994; Mari & Kjørboe, 1996; Mari & Burd, 1998; Passow et al., 2001; Krembs & Engel, 2001; Engel, 2002; Radić et al., 2005; Bar-Zeev et al., 2009). By contrast, studies of freshwater TEP are scarce, are generally time-limited, and have focused mainly on the spring diatom development and the bacterial colonization of the particles (Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006; Arnous et al., 2010). Detailed distribution of freshwater TEP and their relationships with phytoplankton and bacteria over a complete seasonal cycle are lacking (but see Bermann & Viner-Mozzini, 2001). In this study, we estimated the significance of TEP in two lakes that differ in trophic status during an annual cycle from February to December 2007. Because algae and bacteria are considered as the main producers of TEP, phytoplankton composition, chlorophyll a and bacterial abundance were considered throughout the annual cycle. Lakes Pavin and Grangent were selected for their well-known phytoplankton composition. Lake Pavin is characterized by a spring bloom mainly dominated by large-size colonial diatoms (*Aulacoseira italica*, previously named *Melosira italica* subsp. *subarctica* and *Asterionella formosa*). Summer development consists of the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* and the chlorophyte *Oocystis lacustris*, while the diatoms *Asterionella formosa* and *Cyclotella* sp. and the chlorophyte *Sphaerocystis schroeteri* dominate the phytoplankton communities in autumn (Quiblier- Lloberas et al., 1996; Carrias et al., 1998). Lake Grangent is a hypereutrophic reservoir of the River Loire. Since the end of 1970, high external phosphorus loading has been causing

hypereutrophication of this reservoir, leading to recurrent cyanobacterial blooms of *Microcystis aeruginosa* during summer (Berthon et al. 1996; Latour et al., 2004). Our main objective was to determine how TEP differed in abundance, concentration and size spectra according to lake trophic status and to seasonal changes in phytoplankton composition within and between lakes.

3. Material and methods

3.1. Study site and sampling

The study was conducted in two lakes with different trophic status located in the Massif Central, France. Lake Pavin (45° 29' N, 02° 53' E, altitude: 1197 m) is a volcanic mountain lake characterized by its circular shape and its low surface and drainage basin area (44 and 50 × 10⁴ m², respectively). It is a deep (maximum depth: 92m) dimictic (with partial overturns), meromictic (limit between mixo and monimolimnion: 55m), and oligomesotrophic lake. The depth of the euphotic zone ranges between 20 and 30 m. During the thermal stratification the epi-, meta- and hypolimnion are located at 0-5, 10-18 and 20-55 m, respectively (Colombet et al., 2009). Lake Grangent (45° 27' N, 04° 15' E, altitude: 420 m) is a hypereutrophic, turbid reservoir located on the upper reaches of the River Loire 15 km from the city of Saint-Etienne. The reservoir was created in 1957; it has a surface area of 365 ha, a length of 21 km, a maximum depth of 50 m and a capacity of 57.4 × 10⁶ m³. This waterbody is important for energy production, field irrigation and summer recreational activities.

Sampling was conducted bimonthly from February to December 2007 in the epilimnion of the lakes (at depth 0.5 and 1 m in Lakes Grangent and Pavin, respectively). Water samples were collected using a 10 L Van Dorn bottle at the deepest point of Lake Pavin and in the downstream part of the Grangent reservoir, where blooms have been generally occurring for the past few years (Giraudet & Berthon, 1999). Water temperature and dissolved oxygen profiles were determined *in situ* using a WTW-OXI-320 multiparameter probe.

3.2. Phytoplankton analysis

Chlorophyll *a* concentrations were determined spectrophotometrically (Lorenzen 1967) from samples (0.5-2.5 l) collected on Whatman GF/F filters. Pigments were extracted in 90% acetone and concentrations were calculated using SCOR-UNESCO equations. Microscopic counts of phytoplankton were performed in Lugol's iodine (1:100) fixed samples, under an inverted microscope at a magnification of $\times 400$ (Utermohl, 1958). Because of its buoyancy, *M. aeruginosa* could not be counted by this method. *M. aeruginosa* cell densities were therefore determined in duplicate using a Malassez counting chamber with a Nikon Optiphot 2 microscope ($\times 200$; Nikon, Melville, NY, USA) after the rapid disruption (< 1 min to achieve dissociation without damaging colony cells) of the colonial structure of *M. aeruginosa* by low-power ultrasonication (20 kHz) (ultrasonic processor at 25 kHz). Taxonomic identification was made at the genus or species level using references (Bourrelly, 1981, 1985, 1990; Komarek and Anagnostidis, 1999, 2005) and previous studies in Lake Pavin (Amblard et al., 1992; Carrias et al., 1998, 2001) and Lake Grangent (Giraudet and Berthon, 1999). The phytoplankton carbon biomass was calculated from the mean cell volume of each species according to Hillebrand et al. (1999), considering that $10^6 \mu\text{m}^3 = 1 \mu\text{g}$ (wet weight) and assuming that organic cell carbon represents 12% of wet weight biomass (Lamotte & Bourlière, 1983).

3.3. Total bacteria count

Samples (5 ml) were fixed with 2% (final concentration) formalin, stained with DAPI (final concentration = $0.25 \mu\text{g ml}^{-1}$) and filtered on $0.2 \mu\text{m}$ pore filters according to Porter and Feig (1980). The filters were mounted with a non-fluorescent immersion oil between a glass slide and a cover slip and slides were stored at -20°C until counting was performed. Preparations were examined under UV light at $\times 1100$ magnification by epifluorescence microscopy in a dark room using a LEICA FU microscope. Bacterial cell counts were made in 50-80 fields of view of the microscope.

3.4. Determination of TEP

Colorimetric determination of TEP was performed according to the protocol of Passow and Alldredge (1995). Briefly, triplicate 50–150 mL samples were vacuum-filtered (150 mm Hg) through 25 mm, $0.4 \mu\text{m}$ polycarbonate filter (Millipore HTPP). The filters were stained

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

for <5 s with 0.5 mL of 0.02% Alcian blue in 0.06% acetic acid (pH 2.5) and then rinsed with distilled water to remove excess dye. The filters were then placed in beakers with an aliquot (6 ml) of 80% (v/v) H₂SO₄ for 2 h with gentle stirring. Absorbance of the extracted material was measured spectrophotometrically at 787 nm. The standard curve was prepared by filtering different masses of xanthan gum (Sigma G-1253) on 0.4 µm polycarbonate filters. Absorbance measured on filter blanks were subtracted from those of standard curve and sample absorbance. TEP concentration is expressed in µg xanthan gum equivalent per liter (µg Xeq.l⁻¹).

Samples for TEP abundance were fixed with 1% (final concentration) formalin. Triplicate subsamples of 2 to 5 ml were stained with polysaccharide-specific Alcian blue (Passow and Alldredge, 1994) and filtered on white 0.2 µm polycarbonate membranes (GTTP, Millipore). Staining was performed on damp filters for 5 s using an aqueous solution of 0.03% Alcian blue and 0.06% acetic acid. The filter was removed, mounted on a glass slide with emersion oil, and stored at -20 °C until counting was performed. Particle analyses were performed with an epifluorescence microscope (Leitz Laborlux) equipped with a ×100 objective lens, a Sony 3CCD color video camera (model DWC-950P), a Sony video recorder, and a Leica Q500 personal computer. Counts were carried out on video images using the image analysis Leica Qwin software (Carrias et al., 2002). Two to four transects were scanned for each filter under visible light at ×1250 magnification and TEP (40 to 500 particles) were sized and counted.

TEP were separated into 5 size classes (<5, 5-10, 10-15, 15-20 and >20µm) according to equivalent spherical diameter (ESD) and size spectra were calculated according to the power relation $N = k'd_p^{-\beta}$, where the constant k depends on particle concentration and β describes the size spectra. For each size interval, the particle concentration (dN) was normalized to the length of the interval (dp) and plotted against the arithmetic average length (l). The parameters k and β were estimated by regression (Mari & Kiørboe, 1996; Carrias et al., 2002). Significant ($P < 0.05$) regressions indicated that the size distribution of the TEP follows a power law. A decrease in β signified a reduction in the contribution of small particles. Assuming that TEP size spectra are caused by coagulation processes due to turbulent shear, the steady-state distribution of the TEP would have a β coefficient equal to 3 (McCave, 1983). β values lower than 4 or non-significant relationships can be interpreted as indicating

a non-steady-state distribution of the particles (Passow and Alldredge, 1994; Mari and Kiørboe, 1996).

3.5. Statistical analyses

Differences between lakes in biological and TEP variables were tested by one-way analysis of variance (ANOVA). Potential relationships between variables were analyzed by linear regressions for each lake. For these analyses, data were log transformed to meet the assumptions of normality and homogeneity of the residuals. Differences in the TEP-chlorophyll *a* ratio were performed using the non-parametric Mann-Whitney test. We used SYSTAT software (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) for all statistical analyses.

4. Results

4.1. Ambient environmental conditions

Winter was a period of homogeneity of the water column temperature in the lakes, with values close to 3.9 °C for Lake Pavin and 4.4 °C for the Grangent reservoir. The thermal stratification started in April in both lakes and became stable during late spring and summer with maximum epilimnetic values of 17.0 °C and 22.3 °C during August in Lake Pavin and the Grangent reservoir, respectively. During this period the thermocline was located at depth 12 and 30 m in the lake and the reservoir, respectively. Temperature values dropped steeply during October, reaching the winter minimum in December at the end of the study.

Epilimnetic water in the two lakes was generally well oxygenated throughout the study period with values always exceeding 4.0 mg.l⁻¹. Oxygen concentrations varied between 4.2 and 12.5 mg.l⁻¹ (Mean: 8.8 ± 2.3 mg.l⁻¹) in Lake Pavin. Values were highest (close to 11 mg.l⁻¹) in May during the diatom bloom. Oxygen concentration remained stable during the summer (mean = 8.8 ± 1.2 mg.l⁻¹) and peaked in November. Values in Lake Grangent fluctuated from 6.1 to 12.7 mg.l⁻¹ and the seasonal mean value (8.7 ± 1.9 mg.l⁻¹) was close to that recorded in Lake Pavin. Values were high during winter and spring, ranging between 8.6 and 12.7 mg.l⁻¹. Concentrations remained stable during the summer (mean = 8.2 ± 1.2 mg.l⁻¹) while minimal values were recorded in the autumn (mean = 6.8 ± 0.9 mg.l⁻¹).

4.2. Differences in biological parameters and TEP characteristics between the lakes

Marked differences were found in phytoplankton composition, chlorophyll *a* concentrations, bacterial abundance and TEP parameters between the lakes (Table 5). Chlorophyll *a* concentrations in Lake Grangent were 7 times higher than in Lake Pavin, with peak values reaching 56.1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ and 6.9 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ in Lakes Grangent and Pavin, respectively. A similar difference was found for phytoplankton abundances, but no significant difference was found in phytoplankton biomass between the lakes (Table 5). The community in Lake Pavin was largely dominated by large-size diatoms, which accounted for 42.3±29.8 % (range: 4.6-91.4%) of total abundance and 69.5±27.5% (range: 14-98.4%) of total biomass. Large-size diatoms were also significant in Lake Grangent (Table 5), but small-size cyanobacteria, mainly represented by the colonial taxon *Microcystis aeruginosa*, were a dominant constituent of the phytoplankton in this lake. Cyanobacteria in Lake Grangent made up 63.6±29.8% (range: 3.3-96.4%) of abundance and 34.1±29.0% (range: 0.6-82.9%) of biomass of the phytoplankton community. On average, the biomass of chlorophytes was double higher in the more eutrophic lake. However, owing to high variability between samples, no significant difference was found between the lakes in the biomass of chlorophytes. This contrast in trophic status was also characterized by significant differences in bacterial abundances between the lakes (Table 5), with average values in Lake Grangent twice those in Lake Pavin.

We found no significant difference between the lakes in the concentrations of TEP (Table 5). By contrast, between-lake differences in abundance and cumulative surface area of TEP, and also in the size spectra of these particles, were all significant (Table 5). TEP densities were of the order of 10^6 - 10^7 particles. l^{-1} and values were 3 times higher in Lake Grangent. The same difference was found for the cumulative surface area of the particles, with values ranging from about 100 to 2700 $\text{mm}^2\cdot\text{l}^{-1}$. Values of coefficient β indicated that the size spectra of the particles were significantly different between the lakes. The higher values of β in Lake Pavin revealed a higher proportion of small particles in this lake (Table 5), especially at the end of the spring period (Fig. 15).

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparents (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

Table 5. Values (annual means \pm SD) of some biological parameters and TEP characteristics in the epilimnion of Lakes Pavin and Grangent during 2007. Results of one-way ANOVA for differences between lakes are indicated.

	Lake Pavin		Lake Grangent		ANOVA		
	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range	df	F	P
Phytoplankton							
Chl <i>a</i> ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	2.5 \pm 1.7	0.9-6.9	18.5 \pm 18.5	1.9-56.1	28	14.69	<0.001
Abundance ($10^6\cdot\text{l}^{-1}$)	2.9 \pm 2.2	0.6-10.2	17.0 \pm 18.3	0.2-56.5	38	12.65	0.001
Total biomass ($\mu\text{gC}\cdot\text{l}^{-1}$)	140.4 \pm 140.1	0.7-524.8	311.2 \pm 324.7	9.8-1134.1	38	1.78	0.189
Bacillariophyta	104.1 \pm 100.7	8.3-297.8	117.5 \pm 158.2	5.5-694.1	38	0.02	0.188
Chlorophyta	13.5 \pm 16.4	1.0-53.9	32.2 \pm 41.3	0.0-99.9	38	1.18	0.283
Cyanobacteria	1.0 \pm 1.9	0.0-6.1	134.9 \pm 164.0	0.1-516.9	38	44.09	<0.001
Others	21.8 \pm 53.7	0.0-224.1	26.6 \pm 63.8	0.0-275.4	38	0.91	0.346
Bacterial abundance (10^6 ml^{-1})	1.0 \pm 0.2	0.7-1.6	2.4 \pm 0.9	1.7-4.2	38	64.77	<0.001
TEP							
Concentration ($\mu\text{g Xeq}\cdot\text{l}^{-1}$)	1029 \pm 489	287-2502	1641 \pm 1076	552-3552	38	3.85	0.057
Density ($10^6\cdot\text{l}^{-1}$)	3.5 \pm 3.4	0.8-17.5	10.9 \pm 8.8	2.5-36.4	38	30.89	<0.001
Surface area ($\text{mm}^2\cdot\text{l}^{-1}$)	300 \pm 214	127-1153	1087 \pm 669	284-2715	38	50.69	<0.001
Size spectra (β values)	0.8 \pm 0.4	0.3-1.8	0.5 \pm 0.1	0.3-0.7	27	5.24	0.03

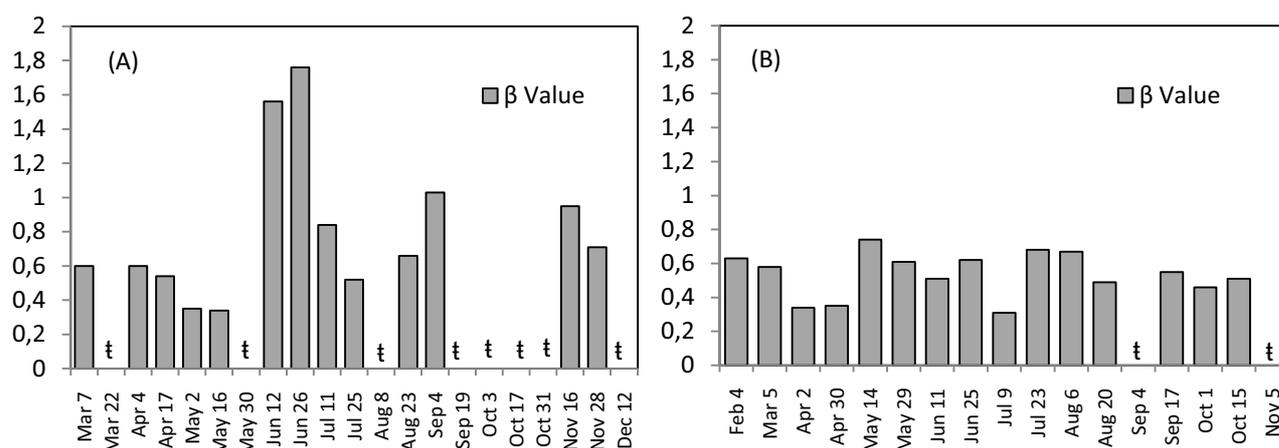


Figure 15. Seasonal distribution the size spectra of TEP (β values) in Lakes Pavin (A) and Grangent (B). t: no data. β values were estimated from significant regressions between the particle concentrations in different size classes and the average length of the particles in each size classes (See method section).

4.3. Seasonal evolution of TEP, phytoplankton, and bacteria

TEP concentrations (μg xanthan gum equivalent per liter) and TEP abundance (number of particles per liter) showed distinct seasonal evolutions in Lake Pavin (Fig. 16) and were uncorrelated ($P > 0.05$). By contrast, comparable temporal evolutions were found in Lake Grangent between TEP abundance and TEP concentrations, and the values were closely related ($r^2 = 0.50$, $P < 0.001$). In neither lake was any significant correlation ($P > 0.05$) recorded between TEP abundances and phytoplanktonic biomass or chlorophyll *a* concentrations. TEP concentrations in Lake Grangent were, however, significantly related to chlorophyll *a* concentrations ($r^2 = 0.50$, $P = 0.025$) and *M. aeruginosa* biomass ($r^2 = 0.237$, $P = 0.025$).

TEP concentration in Lake Pavin varied by a factor of 20 (Table 5, Fig. 16) and reached its maximum value ($2502 \mu\text{g Xeq l}^{-1}$) in September. At this time phytoplankton biomass was low and largely dominated by the small-size chlorophytes *Chodatella ciliata* and *Oocystis lacustris*, which accounted for 84.3% of the total phytoplankton biomass. TEP concentration increased from $292 \mu\text{g Xeq l}^{-1}$ in March to $1485 \mu\text{g Xeq l}^{-1}$ in May. Maximum abundance of TEP (17.5×10^6 particles l^{-1}) was also recorded during this period, 15 days before the peak in TEP concentration (Fig. 16). This period coincided with a drop in chlorophyll *a* concentration and the phytoplankton biomass was almost entirely (96.6%) composed of large-size diatoms (*Synedra ulna*, *Asterionella formosa*, *Aulacoseira italica*, *Stephanodiscus astra*). Peaks in TEP concentration and in TEP abundance were observed in late October, while chlorophyll *a* concentration and phytoplankton biomass were moderately low. Small-size chlorophytes (*Ankistrodesmus gelificatum*, *Coenochloris pyrenoidosa*, *Chodatella ciliata*, *Monoraphidium contortum*, *Oocystis lacustris*) and small-size diatoms (*Cyclotella sp.*) grew in the second part of the summer period and did not support a high level of chlorophyll *a* and TEP abundance. The highest abundance of heterotrophic bacteria (1.6×10^6 bacteria ml^{-1}) in Lake Pavin (Fig. 16a) was recorded in May at the end of the spring bloom and followed the peak of TEP abundances and the spring increase in TEP concentration. Thereafter, bacterial abundance dropped and achieved a minimum value (0.7×10^6 bacteria ml^{-1}) in late June during the clear-water phase. Peaks in bacterial abundance observed during Summer (July 25, September 19) and Autumn (November) always follow peaks in TEP concentration (Fig. 16a, b). In Lake Grangent, levels of TEP and phytoplankton biomass equivalent to those found in Lake Pavin

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

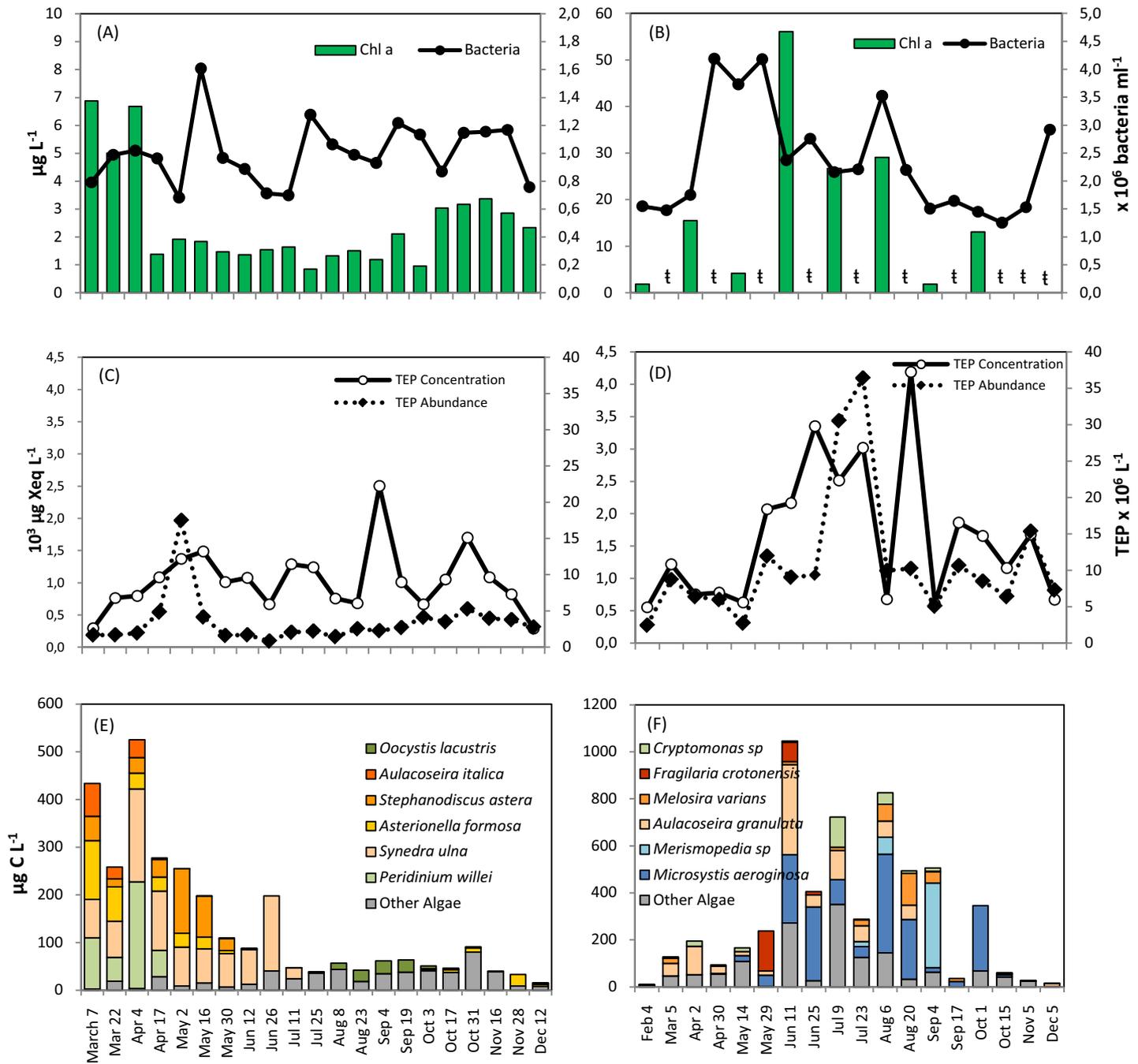


Figure 16. Seasonal distribution of chlorophyll *a* concentration and bacterial abundance (A, B), TEP densities and concentrations (C, D) and phytoplankton biomass (E, F) in Lakes Pavin (left panel) and Grangent (right panel). ‡: no data.

were observed in early spring, and coincided with the development of large-size diatoms (*Aulacoseira granulata*, *Melosira varians* and *Synedra ulna*) in March and April (Fig. 16). In contrast to Lake Pavin, however, a significant development of phytoplankton and production

of TEP took place during the summer period, with peak values of TEP abundance in July ($>3.0 \times 10^7$ particles.l⁻¹). Two significant summer peaks in TEP concentrations were observed in June and August. During these two months the phytoplankton community was dominated by *M. aeruginosa* (46.5±28.3 % and 57.3±7.4% of phytoplankton biomass in June and August, respectively), while the July community was more diversified, with a large contribution of diatoms (*Asterionella formosa*, *Aulacoseira granulate*, *Cyclotella* sp. and *Melosira varians*; 33.8±12.8% of phytoplankton biomass). Phytoplankton biomass decreased markedly in autumn and supported moderate quantities of TEP. Maximum abundance of bacteria was observed during spring and did not follow or coincide with peaks in the abundance or concentration of TEP. A second peak in bacterial abundance (Fig. 16b) was noted during the highest biomass of *M. aeruginosa* in August.

5. Discussion

In this study we analyzed the seasonal evolution of TEP in two lakes, Lake Grangent and Lake Pavin, with differing trophic status and algal composition. As expected, a significant between-lakes difference in productivity was found, as revealed by chlorophyll *a* concentrations, which were 7 times higher in Lake Grangent than in Lake Pavin. According to Vollenweider & Kerekes (1982), year averages of chlorophyll *a* concentrations classify Lake Pavin as being mesotrophic and Lake Grangent at the boundary of the eutrophic and hypereutrophic classes. The tendency to eutrophication of Lake Pavin is also attested by the presence of the diatom *Synedra ulna* and the chlorophyte *Chodatella ciliata* during spring and early summer. These species are commonly found in eutrophic waters (Potapova & Charles, 2007; Hubble & Harper, 2002) and were not mentioned in previous studies in Lake Pavin (Amblard, 1988; Quiblier-Lloberas et al., 1996; Carrias et al., 1998, 2001).

Two different methods were used in this study to characterize the seasonal evolution and the difference between the lakes in the amount of polysaccharide particles. In line with studies on marine (Passow & Alldredge, 1995) and freshwater TEP (Berman & Viner-Mozzini, 2001), our data on Lake Grangent indicate that the amounts of TEP determined colorimetrically were significantly related to the abundance or surface area of TEP determined microscopically. TEP concentrations and abundance were, however,

uncorrelated in Lake Pavin and showed marked differences in their seasonal distributions. For most of the sampling dates during summer and early autumn in Lake Pavin, high TEP concentrations corresponded to low values of TEP abundance. This discrepancy was mainly due to the presence of algae with a mucilaginous coating that was stained by Alcian blue and detected only by the colorimetric method. The colorimetric method measures all material that adsorbs Alcian blue, including the mucilaginous coating of bacteria and algae (Engel & Passow, 2001), which was common in many algae. *Oocystis lacustris*, *Ankistrodesmus gelificatum* and *Anabaena flos-aquae* are enclosed by a mucilaginous cell coating, and generated high concentrations of TEP but low particle abundances during summer in Lake Pavin (Fig. 16C). In Lake Grangent, the summer development of the colonial cyanobacterium *M. aeruginosa*, which is also enclosed in an abundant mucilaginous coating (see Holt et al., 1994) coincided with high values of both abundances and concentrations of TEP. Our results therefore suggest that, in contrast to Lake Pavin, polysaccharides from cell coatings in Lake Grangent supply the pool of TEP precursors and therefore increase the density of particles in the field. During the disintegration of algal colonies, some polysaccharide fragments may be sloughed off from the cell surface coating or hydrolyzed by bacteria (Smith et al., 1995) and then form new free TEP (Schuster & Herndl, 1995; Grossart et al., 1998; Hong et al., 1997; Passow, 2000). This probably occurred in Lake Grangent during the summer, when a peak in TEP abundance followed a peak in TEP concentration. This is also supported by the smaller proportion of small particles found in Lake Grangent. In Lake Pavin, the size spectra analysis of TEP revealed a moderately high value for β , suggesting that summer populations of chlorophytes produce small amounts of free TEP with a high proportion of small particles.

TEP increase with the productivity of aquatic ecosystems (Passow & Alldredge, 1994; Schuster & Herndl, 1995; Prieto et al., 2006) and freshwater TEP concentrations and abundances are usually highest in eutrophic waters (Søndergaard & Middelboe, 1995; Worm & Søndergaard, 1998; Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006). Accordingly we found that the abundance and the cumulative surface area of TEP were significantly higher in the hypereutrophic Lake Grangent than in the mesotrophic Lake Pavin. Values recorded in Lake Pavin were 3-5 times higher than those reported previously in the epilimnion of this lake (Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006; Arnous et al., 2010) as might be expected from the increased productivity of the lake described above. Values of TEP abundances during this study are in line with those reported by Grossart et al. (1997) and Brachvogel et al. (2001) in

the mesotrophic Lake Constance. Mean TEP abundance in the Grangent reservoir were 5 times higher than in the eutrophic Lake Aydat (Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006), but were close to that recorded in the eutrophic Lake Kinneret by Berman & Viner-Mozzini (2001). Values for both Lakes Pavin and Grangent were higher than those previously reported for numerous marine waters (Passow & Alledredge, 1994; Schuster & Herndle, 1995; Kumar et al., 1998; Gracia et al., 2002; Engel, 2004; Prieto et al., 2006; Harlay et al., 2009; Bar-Zeev et al., 2009; Ortega-Retuerta et al., 2009), most of which are moderately oligotrophic environments.

TEP abundances have been regularly related to chlorophyll *a* concentrations or phytoplankton biomass during phytoplankton blooms in both freshwater (Carrias et al., 2002; Lemarchand et al., 2006; Arnous et al., 2010) and marine environments (Kjørboe et al., 1996; Ramaiah & Furuya, 2002; Beauvais et al., 2003). By contrast, our seasonal study and other equivalent assessments in freshwater (Berman & Viner-Mozzini, 2001; De Vicente et al., 2009) did not record any significant relationships between TEP abundance and chlorophyll *a* concentration. The lack of a direct correspondence between TEP abundance and chlorophyll *a* underlines the fact that the maximum density of TEP does not overlap the chlorophyll *a* maximum, but follows it. Initially during the exponential phase, the particles are formed from precursors which can be released by actively growing cells and both their size and their abundance increases with chlorophyll *a* concentrations (Hong et al., 1997). At the stationary and decline phases the relationship between TEP and chlorophyll *a* disappears because the number of TEP continues to increase as a result of either cell death and lysis or sloppy feeding (Baldi et al., 1997; Shibata et al., 1997), while chlorophyll *a* concentrations decline (Passow, 2002). This sequence of chlorophyll *a* and TEP concentration appeared several times during the study in Lake Pavin and was always followed by an increase in bacterial abundance. A similar succession in Lake Grangent was noted in July when TEP densities and concentrations peaked after the maximum development of phytoplankton. The spring relationship between TEP and diatoms is less perceptible in this hypereutrophic lake, and no clear relationship between bacterial abundance and chlorophyll *a* or TEP concentration were detected. In addition, the ratio between TEP concentration and chlorophyll *a* in Lake Pavin averaged 604 ± 472 and was significantly higher (Fig. 17) than that estimated in Lake Grangent (137 ± 115). If we consider seasonal means, between-lakes differences in TEP:chlorophyll *a* ratio were significant higher in both spring and summer

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

periods (Fig. 17) and indicate an elevated TEP production in the mesotrophic lake compared with the hypereutrophic. This result is consistent with the trend found in marine environments by Prieto et al. (2006). These authors recorded a TEP-to-chlorophyll *a* ratio in a eutrophic region of the Alboran Sea two orders of magnitude lower than in oligotrophic stations of the Gulf of Cádiz. In a study of TEP associated with a diatom spring bloom in a subarctic ria in Japan, Ramaiah et al. (2001) recorded a TEP:chlorophyll *a* ratio averaging 486 ± 293 . This ratio was only 104 ± 65 in a batch culture of the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* (Surosz et al., 2006), very close to that estimated in Lake Grangent. Our results are also consistent with the experiments of Penna et al. (1999) and Mari et al. (2005) where the production of extracellular polysaccharides by marine diatoms was stimulated by nutrient limitation. The low TEP:chlorophyll *a* ratio during early spring in Lake Pavin and late spring in Lake Grangent indicate the onset of the bloom of diatoms and cyanobacteria, respectively. In May, at the end of the spring bloom, the concentration of nutrients in Lake Pavin declines with a subsequent decrease in chlorophyll *a* concentrations and an increase in the individual rate of TEP production leading to a high TEP:chlorophyll *a* ratio.

We conclude that *in situ* TEP production depends mainly on the algal composition in pelagic environments and that both the colorimetric and microscopic methods should be used for their assessment because they provide different information about TEP-phytoplankton relationships. Although TEP density increases with productivity, per-cell exudation of TEP decreases with the increase in trophic state of the system. Finally, TEP appear more significant for bacterial growth and in the formation of aggregates during the decline in algal populations in the less productive lake than in the hypereutrophic reservoir.

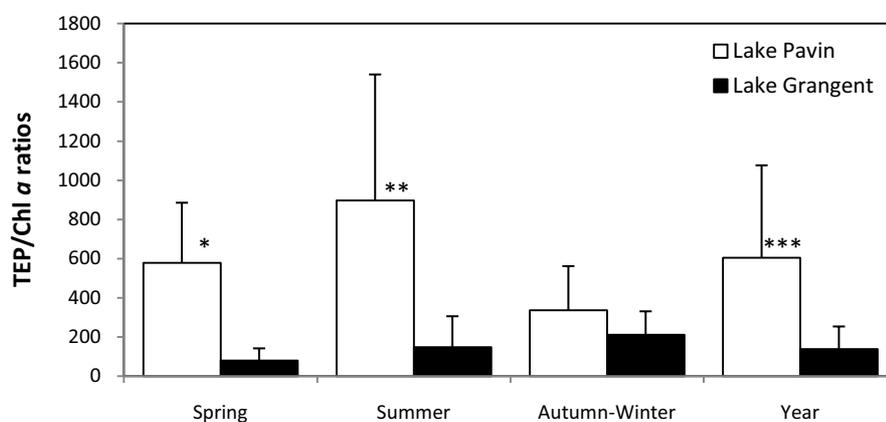


Figure 17. Comparison of TEP:chlorophyll *a* ratio in Lakes Pavin and Grangent . Significant differences (Mann-Whitney test) between lakes are indicated as follows: *: $0.01 < P < 0.05$, **: $0.01 < P < 0.001$, ***: $P = 0.001$

6. Acknowledgments

MBA was supported by a doctoral fellowship from the Syrian government. This study was supported by CNRS UMR 6023. We gratefully acknowledge support from EDF-R&D.

7. References

- Allredge, A. L., U. Passow & B. E. Logan, 1993. The abundance and significance of a class of large transparent organic particles in the ocean. *Deep Sea Research*. 40: 1131–1140.
- Allredge, A. L., U. Passow & S. H. D. Haddock, 1998. The characteristics and transparent exopolymer (TEP) content of marine snow formed from thecate dinoflagellates. *Journal of Plankton Research* 20: 393–406.
- Amblard, C. 1988. Seasonal succession and strategies of phytoplankton development in two lakes of different trophic. *Journal of Plankton Research* 10: 1189–1208.
- Amblard, C., S. Rachiq & G. Bourdier, 1992. Photolithotrophy, photoheterotrophy and chemoheterotrophy during spring phytoplankton development (Lake Pavin). *Microbial Ecology* 24: 109–123.
- Arnous, M.B., N. Courcol & J. F. Carrias, 2010. The significance of transparent exopolymeric particles in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates in Lake Pavin. *Aquatic Sciences* 72: 245–253.
- Baldi, F., A. Minacci, A. Saliot, L. Mejanelle, P. Mozetic, V. Turk & A. Malej, 1997. Cell lysis and release of particulate polysaccharides in extensive marine mucilage assessed by lipid biomarkers and molecular probes. *Marine Ecology Progress Series*; 153: 45–57.
- Bar-Zeev, E., I. Berman-Frank, N. Stambler, E. V. Domínguez, T. Zohary, E. Capuzzo, E. Meeder, D. J. Suggett, D. Iluz, G. Dishon & T. Berman, 2009. Transparent exopolymer particles (TEP) link phytoplankton and bacterial production in the Gulf of Aqaba. *Aquatic Microbial Ecology* 56: 217–225.
- Beauvais, S., M. L. Pedrotti, E. Villa & R. Lemée, 2003. Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in relation to trophic and hydrological conditions in the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 262: 97–109.
- Beauvais, S., M. L. Pedrotti, J. Egge, K. Iversen & C. Marrasé, 2006. Effects of turbulence on TEP dynamics under contrasting nutrient conditions: implications for aggregation and sedimentation processes. *Marine Ecology Progress Series* 323: 47–57.
- Berman, T. et Y. Viner-Mozzini, 2001. Abundance and characteristics of polysaccharide and proteinaceous particles in Lake Kinneret. *Aquatic Microbial Ecology* 24: 255–264.
- Berthon, J.L., J. Devaux, L. Aleya, H. Giraudet & F. Restituto, 1996. Déterminisme de l'eutrophisation de la retenue de Grangent (Loire): étude des apports en nutriments, de la dynamique des populations phytoplanctoniques et des relations phyto-zooplancton en 1990–1991. *Hydroécologie Appliquée* 8 : 99–125.

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparents (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

- Bertocchi, C., L. Navarini & A. Cesàro, 1990. Polysaccharides from cyanobacteria. *Carbohydr. Polym.* 12, 127–153.
- Bourrelly P., 1981. Les Algues d'Eau Douce. Tome II. Les Algues Jaunes et Brunes, Chromophytes, Chrysophytes, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. N. Boubée et Cie, Paris. 517 p.
- Bourrelly P., 1985. Les Algues d'Eau Douce. Tome III. Les Algues Bleues et Rouges, Les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines. Second Edition. N. Boubée et Cie, Paris.
- Bourrelly P., 1990. Les Algues d'Eau Douce. Tome I. Les Algues Vertes. Second Edition. N. Boubée et Cie, Paris. 576 p.
- Brachvogel, T., B. Schweitzer & M. Simon, 2001. Dynamics and bacterial colonization of microaggregates in a large mesotrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 26: 23–35.
- Carrias, J-F., C. Amblard & G. Bourdier, 1998. Seasonal dynamics of free and attached heterotrophic nanoflagellates in an oligomesotrophic lake. *Freshwater Biology* 39: 101-111.
- Carrias, J-F., A. Thouvenot, C. Amblard & T. Sime-Ngando, 2001. Dynamics and growth estimates of planktonic protists during early spring in Lake Pavin (France). *Aquatic Microbial Ecology* 24: 163-174.
- Carrias, J-F., J. P. Serre, T. Sime-Ngando & C. Amblard, 2002. Distribution, size, and bacterial colonization of pico and nano-detrital organic particles in two lakes of different trophic status. *Limnology and Oceanography* 47: 1202-1209.
- Colombet, J., M. Charpin, A. Robin, C. Portelli, C. Amblard, H.M. Cauchie & T. Sime-Ngando, 2009. Seasonal depth-related gradients in virioplankton: Standing stock and relationships with microbial communities in Lake Pavin (France). *Microbial Ecology* 58: 728-736.
- De Vicente, I., E. Ortega-Retuerta, O. Romera, R. Morales-Baquero & I. Reche, 2009. Contribution of transparent exopolymer particles to carbon sinking flux in an oligotrophic reservoir. *Biogeochemistry* 96: 13–23.
- Engel, A. & U. Passow, 2001. Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Marine Ecology Progress Series* 219: 1–10.
- Engel, A., 2002. Direct relationship between CO₂ uptake and transparent exopolymer particles production in natural phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 49–54.
- Engel, A., 2004. Distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in the northeast Atlantic Ocean and their potential significance for aggregation processes. *Deep-Sea Research* 51: 83–92.
- Engel, A., S. Thomas, U. Riebesell, E. Rochelle-Newall & I. Zondervan, 2004. Polysaccharide aggregation as a potential sink of marine dissolved organic carbon. *Nature* 428: 929–932.
- García, C.M., L. Prieto, M. Vargas, F. Echevarría, J. García-Lafuente, J. Ruiz & J. P. Rubín, 2002. Hydrodynamics and the spatial distribution of plankton and TEP in the Gulf of Cadiz (SW Iberian Peninsula). *Journal of Plankton Research* 24, 817–833.
- Giraudet, H. & J.L. Berthon, 1999. Rapport annuel du suivi de la communauté planctonique de la retenue de Grangent et de l'étude de l'état physiologique des Cyanobactéries lors du processus de développement des fleurs d'eau. D.E.R. EDF, Agence de l'Eau Loire-Bretagne. pp. 130.
- Gloaguen, V., H. Morvan & L. Hoffman, 1995. Released and capsular polysaccharides of Oscillatoriaceae (Cyanophyceae, Cyanobacteria). *Archiv für Hydrobiologie* 78: 53–69.

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparents (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

- Grossart, H. P., 1999. Interactions between marine bacteria and axenic diatoms (*Cylindrotheca fusiformis*, *Nitzschia laevis* and *Thalassiosira weissflogii*) incubated under various conditions in the lab. *Aquatic Microbial Ecology* 19: 1–11.
- Grossart, H. P., M. Simon & B.E. Logan, 1997. Formation of macroscopic organic aggregates (lake snow) in a large lake: the significance of transparent exopolymer particles (TEP), phyto- and zooplankton. *Limnology and Oceanography* 42: 1651–1659.
- Grossart, H. P., T. Berman, M. Simon & K. Pohlmann, 1998. Occurrence and microbial dynamics of macroscopic organic aggregates (lake snow) in Lake Kinneret, Israel, in fall. *Aquatic Microbial Ecology* 14: 59–67.
- Grossart, H. P., M. Allgaier, U. Passow & U. Riebesell, 2006. Testing the effect of CO₂ concentration on the dynamics of marine heterotrophic Bacterioplankton. *Limnology and Oceanography* 51: 1–11.
- Harlay, J., C. De Bodt, A. Engel, S. Jansen, Q. Hoop, J. Piontek, N. Van Oostende, S. Groom, K. Sabbe & L. Chou, 2009. Abundance and size distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in a coccolithophorid bloom in the northern Bay of Biscay. *Deep Sea Research* 56: 1251–1265.
- Hillebrand, H., C. D. Dürselen, D.Kirschtel, U. Pollinger & T. Zohary, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.
- Holt, J. G., N. R. Krieg & P. H. A. Sneath, 1994. Group 11. Oxygenic phototrophic bacteria. In : Henrys W;R. WW, Baltimore (ed) *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*. 9th edition, p 377-425.
- Hong, Y., W.O. Smith & A.M. White, 1997. Studies on transparent exopolymer particles (TEP) produced in the Ross Sea (Antarctica) and by *Phaeocystis antarctica* (Prymnesiophyceae). *Journal of Phycology* 33: 368–376.
- Hubble, D.S. & D.M. Harper, 2002. Phytoplankton community structure and succession in the water column of Lake Naivasha, Kenya: a shallow tropical lake. *Hydrobiologia*, 488: 89–98.
- Kjørboe, T. & J.L.S. Hansen, 1993. Phytoplankton aggregate formation: Observations of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material. *Journal of Plankton Research* 15: 993–1018.
- Kjørboe, T., J. Hansen, A. L. Alldredge, G.A. Jackson, U. Passow, H.G. Dam, D.T. Drapeau, A. Waite & C.M. Garcia, 1996. Sedimentation of phytoplankton during a spring diatom bloom: Rates and mechanisms. *Journal of Marine Research* 54: 1123–1148.
- Komarek J., & K. Anagnostidis, 1999. *Süsswasserflora von Mitteleuropa* 19/1. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. Gustav Fischer éd., Heidelberg. Berlin, 548 p.
- Komarek J., & K. Anagnostidis, 2005. *Süsswasserflora von Mitteleuropa* 19/2. Cyanoprokaryota .Teil: Oscillatoriales. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag éd., Elsevier, München, 759 p
- Krembs, C. A. Engel, 2001. Abundance and variability of microorganisms and transparent exopolymer particles across the icewater interface of melting first-year sea ice in the Laptev Sea (Arctic). *Marine Biology* 138: 173–185.
- Kumar, M. D., V.V.S.S. Sarma, N. Ramaiah, M. Gauns & S.N. de Sousa, 1998. Biogeochemical significance of transparent exopolymer particles in the Indian Ocean. *Geophysical Research Letters* 25: 81–84.
- Lamotte, M. & F. Bourlière, 1983. *Problèmes d'écologie: structure et fonctionnement des écosystèmes limniques*. Masson, France, 254 p.

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparents (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

- Latour, D., O. Sabido, M. J. Salençon & H. Giraudet, 2004. Dynamics and metabolic activity of the benthic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the Grangent reservoir (France). *Journal of Plankton Research* 26: 1–8.
- Lemarchand, C., L. Jardiller, J. F. Carrias, M. Richardot, D. Debroas, T. Sime-Ngando & C. Amblard, 2006. Community composition and activity of prokaryotes associated to detrital particles in two contrasting lake ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology* 57: 442-451.
- Logan, B. E., U. Passow, A. L. Alldredge, H.P. Grossart & M. Simon, 1995. Mass sedimentation of diatom blooms as large aggregates is driven by coagulation of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research* 42: 203–214.
- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments : Spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343-346.
- Mari, X. & T. Kiørboe, 1996. Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the Kattegat. *Journal of Plankton Research* 18: 969–986.
- Mari, X. & A. Burd, 1998. Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Marine Ecology Progress Series* 163: 63–76.
- Mari, X., 1999. Carbon content and C:N ratio of transparent exopolymeric particles (TEP) produced by bubbling exudates of diatoms. *Marine Ecology Progress Series* 183: 59–71.
- Mari, X., F. Rassoulzadegan, C.P.D. Brussaard & P. Wassmann, 2005. Dynamics of transparent exopolymeric particles (TEP) production by *Phaeocystis globosa* under N- or P-limitation: a controlling factor of the retention/export balance. *Harmful Algae* 4: 895–914.
- McCave, I. N., 1983. Particulate size spectra, behavior and origin of nepheloid layers over the Nova Scotian Continental Rise. *Journal of Geophysical Research* 88: 7647–7666.
- Ortega-Retuerta, E., I. Reche, E. Pulido-Villena, S. Agustí & C.M. Duarte, 2009. Uncoupled distributions of transparent exopolymer particles (TEP) and dissolved carbohydrates in the Southern Ocean. *Marine Chemistry* 115: 59–65.
- Passow, U. & A.L. Alldredge, 1994. Distribution, size, and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Marine Ecology Progress Series* 113: 185–198.
- Passow, U., A.L. Alldredge & B.E. Logan, 1994. The role of particulate carbohydrate exudates in the flocculation of diatom blooms. *Deep Sea Research* 41: 335–357.
- Passow, U. & A.L. Alldredge, 1995. Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: The role of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research* 42: 99–109.
- Passow, U., W. Kozłowski & M. Vernet, 1995. Distribution of Transparent Exopolymer Particles (TEP) during summer at a permanent station in Antarctica. *Antarctic Journal of United States* 30: 265–266.
- Passow, U., 2000. Formation of Transparent Exopolymer Particles, TEP, from dissolved precursor material. *Marine Ecology Progress Series* 192: 1–11.
- Passow, U., R.F. Shipe, A. Murray, D.K. Pak, M.A. Brzezinski & A.L. Alldredge, 2001. Origin of transparent exopolymer particles (TEP) and their role in the sedimentation of particulate matter. *Continental Shelf Research* 21: 327–346.
- Passow, U., 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in the aquatic environments. *Progress in Oceanography* 55: 287-333.

Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparents (TEP) dans deux lacs de niveau trophique différent

- Penna, A., S. Bertuli, N. Penna & M. Magnani, 1999. Influence of nutrient ratios on the in vitro extracellular polysaccharide production by marine diatoms from the Adriatic Sea. *Journal of Plankton Research* 21: 1681–1690.
- Porter, K.G. & Y.S. Feig, 1980. The Use of DAPI for Identifying and Counting Aquatic Microflora. *Limnology and Oceanography* 25: 943-948.
- Potapova, M. & D.F. Charles, 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States. *Ecology Indicators* 7: 48–70.
- Prieto, L., F. Sommer, H. Stibor & W. Koeve, 2001. Effects of planktonic copepods on transparent exopolymer particles (TEP) abundance and size spectra. *Journal of Plankton Research* 23: 515–525.
- Prieto, L., G. Navarro, A. Cozar, F. Echevarría & C.M. García, 2006. Distribution of TEP in the euphotic and upper mesopelagic zones of the southern Iberian coasts. *Deep Sea Research* 53: 1314–1328.
- Quiblier, C., G. Bourdier, C. Amblard & D. Pepin, 1996. Impact of grazing on phytoplankton in Lake Pavin: contribution of different zooplankton groups. *Journal of Plankton Research* 18: 305-322.
- Radić, T., R. Kraus, D. Fuks, J. Radić & O. Pečar, 2005. Transparent exopolymeric particles distribution in the northern Adriatic and their relation to microphytoplankton biomass and composition. *Science of the Total Environment* 353: 151– 161.
- Ramaiah, N., T. Yoshikawa & K. Furuya, 2001. Temporal variation in transparent exopolymer particles (TEP) associated with a diatom spring bloom in a subarctic Ria in Japan. *Marine Ecology Progress Series* 212: 79–88.
- Ramaiah, N. & K. Furuya, 2002. Seasonal variations in phytoplankton composition and transparent exopolymer particles in a eutrophicated coastal environment. *Aquatic Microbial Ecology* 30: 69–82.
- Schuster, S. & G.J. Herndl, 1995. Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 124: 227–236.
- Shibata, A., K. Kogure, I. Koike & K. Ohwada, 1997. Formation of submicron colloidal particles from marine bacteria by viral infection. *Marine Ecology Progress Series*. 155: 303–307.
- Smith, D.C., G.F. Steward, R. A. Long & F. Azam, 1995. Bacterial mediation of carbon fluxes during a diatom bloom in a mesocosm. *Deep-Sea Research* 42: 75–97.
- Søndergaard, M. & M. Middelboe, 1995. A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Marine Ecology Progress Series* 118: 283–294.
- Sugimoto, K., H. Fukuda, M.A. Baki & I. Koike, 2007. Bacterial contributions to formation of transparent exopolymer particles (TEP) and seasonal trends in coastal waters of Sagami Bay, Japan. *Aquatic Microbial Ecology* 46: 31–41.
- Surosz, W., K.A. Palińska & A. Rutkowska, 2006. Production of transparent exopolymer particles (TEP) in the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* OL-K10. *Oceanologia*, 48, 385–394.
- Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik. *Mitt. International Verein Limnology* 9: 1–38.
- Vollenweider, R. A. & J. Kerekes, 1982. Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control. OECD Paris, 156pp.
- Worm, J. & M. Søndergaard, 1998. Alcian Blue-stained particles in an eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 20: 179-186.

**Chapitre IV : Distribution saisonnière des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP)
dans deux lacs de niveau trophique différent**

Zhou, J., K. Mopper & U. Passow, 1998. The role of surface-active carbohydrates in the formation of transparent exopolymer particles by bubble adsorption of seawater. *Limnology and Oceanography* 43: 1860–1871.

Chapitre : V

**Effet de la structure du réseau
trophique aquatique sur la
dynamique des TEP et des
microorganismes et sur la
sédimentation de la matière
organique**

Chapitre V : Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

1. Objectifs et présentation de l'étude.....	89
2. Résultats.....	89
2.1. Conditions environnementales.....	89
2.1.1. <i>Température</i>	89
2.1.2. <i>Oxygène dissous</i>	89
2.2. Structure du réseau trophique pélagique.....	90
2.2.1. <i>Zooplancton</i>	90
2.2.2. <i>Chlorophylle a</i>	91
2.2.3. <i>Biomasse et composition spécifique du phytoplancton</i>	91
2.2.4. <i>Bactéries, protistes flagellés hétérotrophes et ciliés</i>	93
2.3. Distribution des TEP.....	96
2.3.1. <i>Évolution saisonnière des TEP avec les communautés phytoplanctoniques</i>	96
2.3.2. <i>Distribution en taille et colonisation des TEP</i>	97
2.4. Taux de sédimentation de la matière organique.....	98
2.5. Relations entre les TEP, les variables biologiques, et le taux de sédimentation... 98	
3. Discussion.....	100
3.1. Impact des poissons sur la structure du réseau trophique.....	100
3.1.1. <i>Zooplancton</i>	101
3.1.2. <i>Phytoplancton</i>	102
3.1.3. <i>Bactéries et protozoaires</i>	102
3.2. Impact des traitements sur les TEP.....	104
3.2.1. <i>Relations entre les TEP et le plancton</i>	104
3.2.2. <i>Distribution en taille des TEP</i>	109
3.2.3. <i>Relations entre les TEP et le taux de sédimentation</i>	110

Chapitre V : Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

1. Objectifs et présentation de l'étude

L'objectif principal de cette étude a été de tester l'impact des poissons planctonophages sur le phytoplancton et les effets consécutifs sur les TEP et la sédimentation de la matière organique. Les effets sur la structure du réseau trophique microbien ont également été considérés. Cette étude a utilisé les enclos limniques installés sur le lac de Créteil, selon le protocole décrit dans le chapitre 2. Des prélèvements mensuels ont été réalisés entre octobre 2005 et août 2006 afin de suivre l'évolution saisonnière (incluant la période hivernale) des effets en cascade des poissons planctonophages sur le réseau trophique, les TEP et le processus de sédimentation.

2. Résultats

2.1. Conditions environnementales

2.1.1. Température

En raison de la faible épaisseur de la couche d'eau, les mésocosmes ne présentent aucune stratification thermique et une température identique a été enregistrée dans les enclos quelque soit le traitement (Fig. 18a). Globalement l'évolution de la température montre une grande variabilité avec le temps (ANOVA ; $F=21,27$; $P<0,001$). Depuis le début de l'expérience, en octobre 2005, jusqu'en février 2006, les valeurs chutent de 16,3°C à 2,1°C. Elles augmentent ensuite progressivement pour atteindre un maximum de 24,7°C en juillet 2006.

2.1.2. Oxygène dissous

L'eau dans les deux séries d'enclos a été généralement bien oxygénée pendant toute la période d'étude avec des valeurs supérieures à 4,0 mg.l⁻¹ (Fig. 18b). La concentration en oxygène a varié entre 5,0 et 18,8 mg.l⁻¹ avec une moyenne de 11,8±3,5 mg.l⁻¹. Les valeurs montrent également une grande variabilité avec le temps (ANOVA ; $F=30,39$; $P<0,001$) mais

pas avec le type de traitement. Les valeurs les plus élevées sont notées en hiver et au printemps et les plus faibles en été.

2.2. Structure du réseau trophique pélagique

2.2.1. Zooplancton

La biomasse totale du zooplancton montre une grande variabilité avec le temps mais n'est pas significativement affectée par la présence de poissons (Tableau 6). Cette biomasse est très faible en hiver (janvier) et atteint son maximum en juin. La biomasse s'échelonne entre 0,01 et 11001,2 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ (moyenne : $2075,4 \pm 3649,6 \mu\text{g C.l}^{-1}$) et entre 0,03 et 5815,8 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ (moyenne : $1650,7 \pm 2622,8 \mu\text{g C.l}^{-1}$), respectivement dans le traitement avec poissons et dans le traitement sans poissons. La composition spécifique de la communauté zooplanctonique est modifiée par la présence des poissons (Tableau 6). La biomasse des cladocères (notamment celle de *Daphnia*) est ainsi significativement plus élevée dans les enclos sans poissons (40,2 % de la biomasse totale) que dans les enclos avec poissons (19,9% de la biomasse totale).

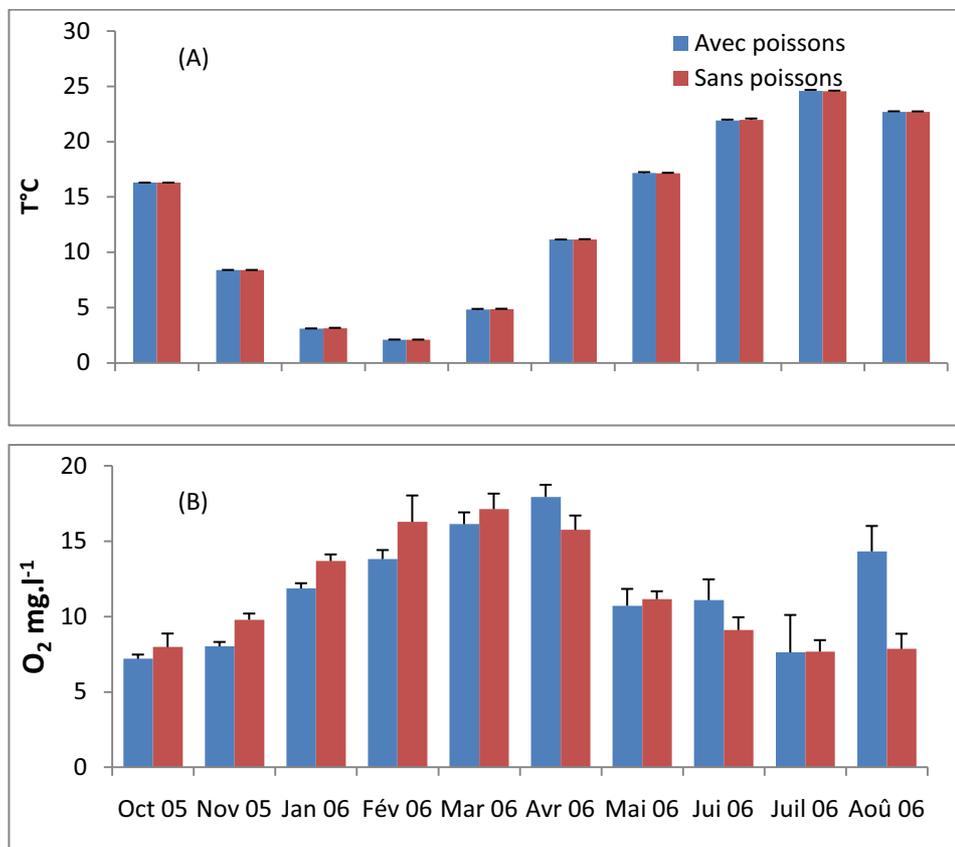


Figure 18. Evolution saisonnière de la température (A) et des concentrations en oxygène dissous (B) en fonction des traitements.

2.2.2. Chlorophylle *a*

Les concentrations en chlorophylle *a* ont été significativement plus élevées dans les enclos avec poissons que dans les enclos sans poissons (Tableau 6, Fig. 19a). Elles ont varié de 0,6 à 69,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (moyenne : $10,6\pm 19,8 \mu\text{g.l}^{-1}$) et de 0,1 à 4,4 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (moyenne : $1,4\pm 1,4 \mu\text{g.l}^{-1}$), respectivement dans les enclos avec poissons et dans les enclos sans poissons. Les concentrations en Chl *a* varient fortement avec le temps (Tableau 6). Du début de l'étude, en octobre et jusqu'en mars, les concentrations en chlorophylle *a* sont environ deux fois plus élevées dans le traitement avec poisson que dans le traitement sans poissons (Fig. 19a), mais les dynamiques restent sensiblement similaires. A partir du mois d'avril, et jusqu'à la fin de l'étude, les concentrations en chlorophylle *a* augmentent nettement dans les mésocosmes avec poissons pour atteindre une valeur maximale en août 2006 (69,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$), alors que dans les enclos sans poissons les valeurs restent relativement stables (moyenne : $0,89\pm 0,57 \mu\text{g.l}^{-1}$).

2.2.3. Biomasse et composition spécifique du phytoplancton

Les valeurs de biomasse du phytoplancton, déduites des dénombrements cellulaires et des biovolumes spécifiques, suivent une dynamique proche de celle des concentrations en chlorophylle *a*, et les valeurs sont significativement plus élevées dans les enceintes avec poissons que dans les enceintes sans poissons (moyenne : $118,60\pm 142,17$ et $11,02\pm 7,68 \mu\text{g C.l}^{-1}$ respectivement) (Fig. 19b). Dans les enclos avec poissons, la biomasse phytoplanctonique a varié de 7,8 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ en janvier à 494,8 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ en août 2006. Les valeurs extrêmes dans les enclos sans poissons sont 0,9 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ (avril) et 24,1 $\mu\text{g C.l}^{-1}$ (octobre).

Les contributions relatives des différents groupes phytoplanctoniques à la biomasse phytoplanctonique totale sont présentées sur la figure 20. Dans les enceintes avec poissons, les chlorophycées (essentiellement *Chlamydomonas* sp. et *Monoraphidium* sp.) dominent la communauté phytoplanctonique, représentant en moyenne $54,7\pm 39,7\%$ de la biomasse au cours de l'étude. En revanche, dans les enceintes sans poissons, la biomasse phytoplanctonique est nettement dominée par les cryptophycées *Cryptomonas ovata* et *Rhodomonas* sp., qui contribuent en moyenne à $48,88\pm 33,15\%$ de la biomasse totale. Les diatomées sont surtout présentes au cours du printemps et ne représentent, pour l'ensemble de la période d'étude et quelque soit le traitement, que $14,5\pm 21,4\%$ de la biomasse phytoplanctonique. Des cyanobactéries (*Anabaena* sp. et *Microsystis* sp.) ont été

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

rencontrées en faible nombre dans seulement 5 échantillons (<3,5% de la biomasse phytoplanctonique totale).

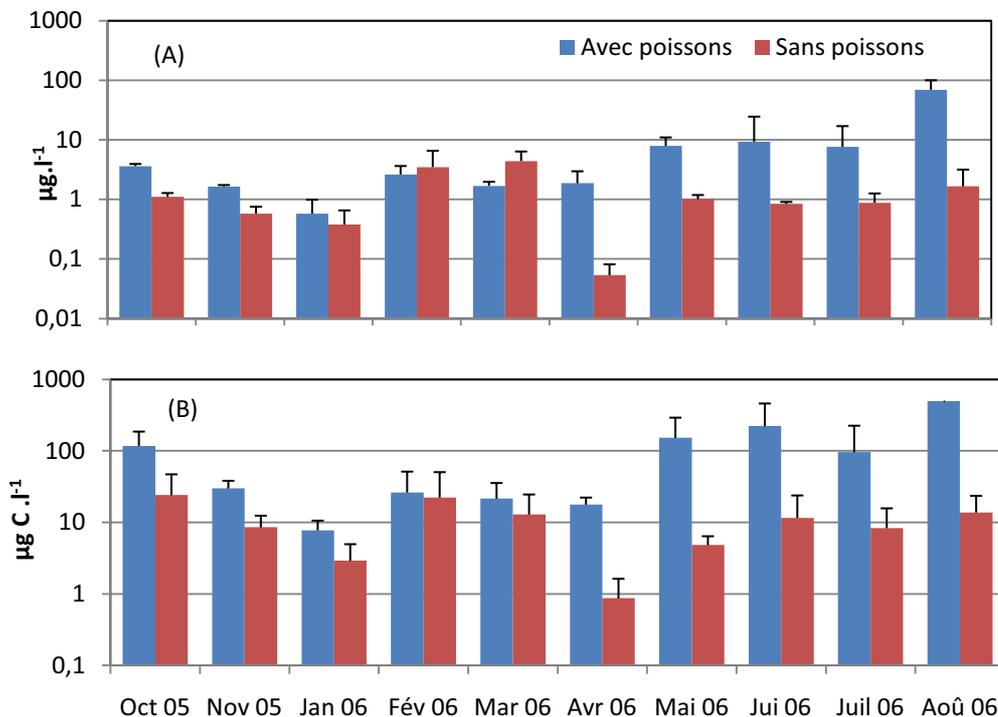


Figure 19. Evolution saisonnière de la concentration en chlorophylle *a* (A) et de la biomasse phytoplanctonique (B) en fonction des traitements.

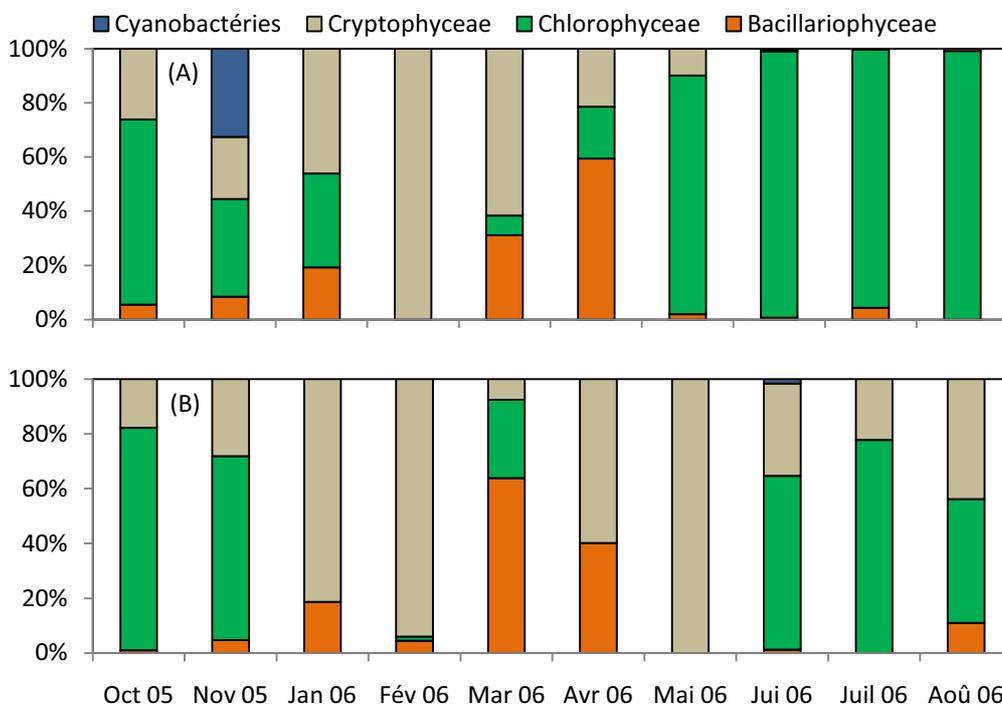


Figure 20. Evolution temporelle de l'importance relative des différents groupes phytoplanctoniques en pourcentage de la biomasse phytoplanctonique totale en fonction des traitements (A, Avec poissons; B, Sans poissons).

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

Tableau 6. Résultats de l'ANOVA à un facteur avec mesures répétées montrant l'impact du traitement (Poissons), du temps et de leurs interactions (P×T) sur les variables biologiques et les TEP. Les effets significatifs ($P < 0,05$) sont indiqués en gras. Les signes positifs ou négatifs indiquent si le traitement a augmenté ou diminué la variable.

	Poissons		Temps		P x T	
	F	P	F	P	F	P
Biomasse Zooplanctonique						
Totale	0,545	0,494	43,937	< 0,001	0,642	0,755
Copépodes	0,588	0,478	20,444	< 0,001	3,643	0,002
Cladocères	51,151 (-)	0,001	29,005	< 0,001	2,286	0,033
Daphnia	14,481 (-)	0,013	11,783	< 0,001	1,532	0,166
Rotifères	2,342	0,186	14,413	< 0,001	1,256	0,287
Calanoïdes	0,741	0,429	20,981	< 0,001	9,402	0,000
Cyclopoïdes	3,424	0,123	6,960	< 0,001	1,104	0,380
Nauplii	1,105	0,341	9,282	< 0,001	2,250	0,036
Biomasse						
Phytoplanctonique						
Biomasse totale	77,068 (+)	0,000	5,590	0,000	1,869	0,082
Chlorophyll <i>a</i>	10,42 (+)	0,023	3,732	0,001	1,88	0,079
Cryptophycées	1,596	0,262	4,582	0,000	2,986	0,007
Chlorophycées	78,407 (+)	0,000	8,416	0,000	3,672	0,002
Bacillariophycées	46,073 (+)	0,001	3,254	0,004	3,097	0,006
TEP						
Abondance	24,91 (+)	0,004	6,54	< 0,001	1,71	0,113
Surface	28,60 (+)	0,003	6,83	< 0,001	2,39	0,026
Colonisation bactérienne	1,07	0,348	6,49	< 0,001	2,311	0,031
Densités microbiennes						
Bactéries	0,001	0,980	2,78	0,011	0,115	0,065
HNF	0,24	0,643	8,37	< 0,001	3,17	0,005
Ciliés	2,04	0,212	1,84	0,086	2,31	0,031

2.2.4. Bactéries, protistes flagellés hétérotrophes et ciliés

L'abondance totale des bactéries hétérotrophe présente une variation significative avec le temps mais non significative en fonction du traitement (Tableau 6). Cependant, à certaines dates de l'étude (octobre, avril, mai et juillet), des différences significatives de l'abondance bactérienne (ANOVA ; $F=23,87$; $P=0,005$) ont été observées entre les traitements (Fig. 21). Les valeurs ont varié de $1,2 \times 10^6$ à $4,2 \times 10^6$ bactéries.ml⁻¹ (moyenne :

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

$2,5 \pm 1,1 \times 10^6$ bactéries.ml⁻¹) et de $1,0 \times 10^6$ à $3,2 \times 10^6$ bactéries.ml⁻¹ (moyenne : $2,1 \pm 0,6 \times 10^6$ bactéries.ml⁻¹), respectivement dans les enclos avec poissons et dans les enclos sans poissons. La dynamique des bactéries est semblable dans les deux traitements, l'abondance maximale a été enregistrée en octobre, elle diminue ensuite et reste stable pendant l'hiver. A partir du mois d'avril, les valeurs de l'abondance augmentent avec celles du phytoplancton pour atteindre un pic au mois de mai et un au mois de juillet (Fig. 21). Avec la diminution de la température en hiver, les valeurs diminuent et l'écart entre les traitements devient minimal.

Aucune différence significative dans l'abondance des protistes flagellés hétérotrophes nanoplanctoniques (HNF) et des ciliés n'a été enregistrée entre les traitements (Tableau 6). Les densités des HNF ont varié de 0,11 à $5,7 \times 10^3$ et de 0,07 à $10,5 \times 10^3$ cellules.ml⁻¹ pour des valeurs moyennes de $1,9 \pm 1,8 \times 10^3$ et $1,5 \pm 3,2 \times 10^3$ cellules.ml⁻¹ dans les enceintes avec poissons et sans poissons, respectivement. La biomasse des HNF s'est échelonné entre 0,8 et 45,9 (moyenne : $14,5 \pm 14,8$ µgC.l⁻¹) et entre 0,5 et 80,7 (moyenne : $12,1 \pm 24,3$ µgC.l⁻¹) dans les mésocosmes avec poissons et sans poissons, respectivement. La dynamique de l'abondance et de la biomasse de cette communauté sont généralement semblables (Fig. 22a), car les biovolumes moyens des espèces dominantes sont très proches. Les valeurs minimales de l'abondance et de la biomasse sont toujours observées en hiver et début du printemps, elles augmentent ensuite au cours de la période estivale et les valeurs maximales sont notées en octobre et mars dans les enclos avec et sans poissons, respectivement.

Les protistes ciliés présentent une densité comprise entre 0,05 et 2,5 et entre 0,05 et 8,5 cellules.ml⁻¹, les valeurs moyennes étant $0,8 \pm 0,8$ et $1,7 \pm 2,6$ cellules.ml⁻¹ dans les enclos avec poissons et sans poissons, respectivement. Les densités des ciliés sont généralement plus élevées dans les enclos sans poissons. Les ciliés représentent une biomasse de 3,5 à 478,9 µgC.l⁻¹. Il n'existe pas de différences marquées dans la biomasse entre les deux traitements (moyenne : $165,7 \pm 175,9$ µgC.l⁻¹ et $171,8 \pm 145,0$ µgC.l⁻¹ dans les enclos avec poissons et sans poissons, respectivement). D'un point de vue saisonnier, les valeurs maximales (de l'abondance ou de la biomasse) sont enregistrées au printemps et elles deviennent faibles en été et en hiver (Fig. 22b).

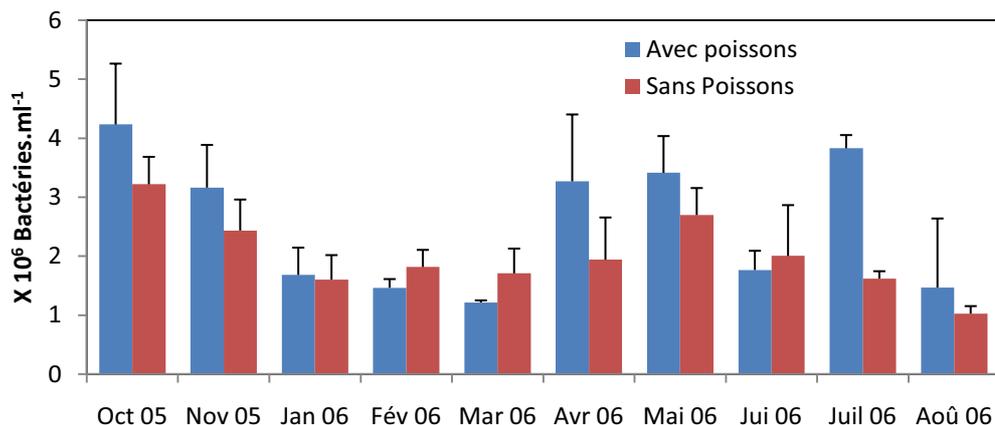


Figure 21. Evolution saisonnière des bactéries hétérotrophes en fonction des traitements

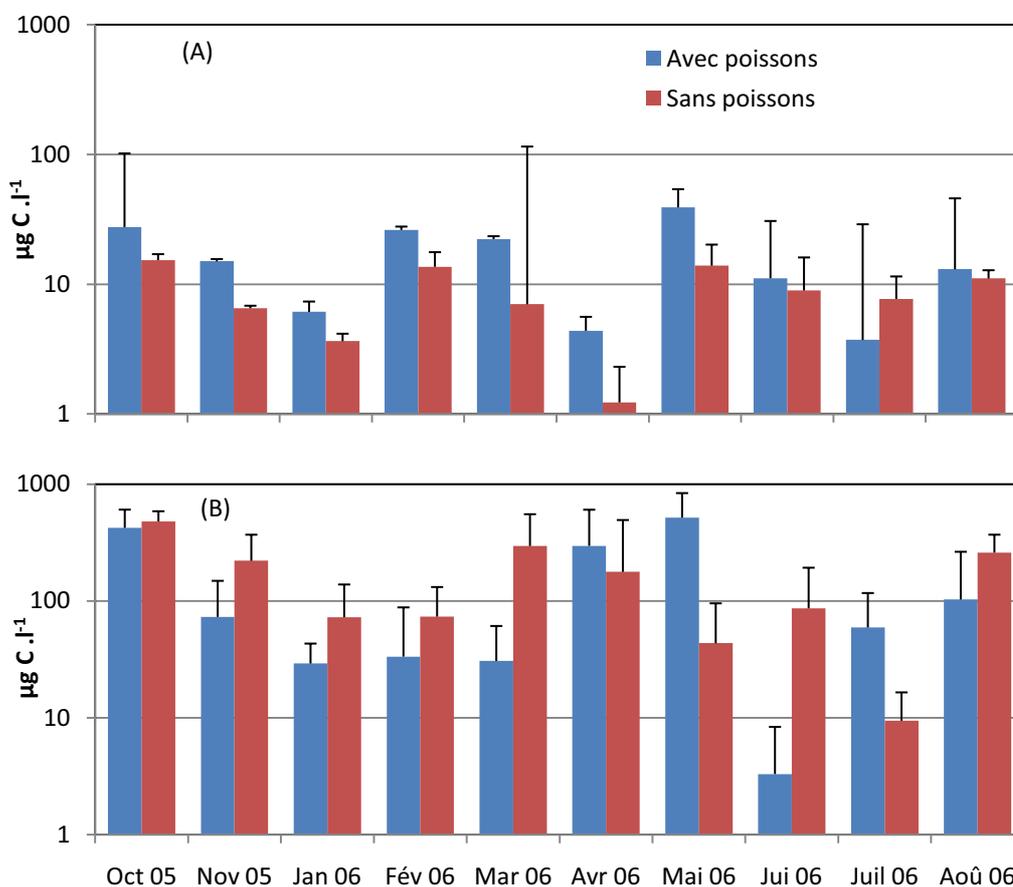


Figure 22. Evolution saisonnière de la biomasse des flagellés hétérotrophes nanoplanctoniques (A) et des ciliés (B) en fonction des traitements.

2.3. Distribution des TEP

Les analyses des TEP en microscopie indiquent que les densités et la surface cumulée de ces particules sont nettement et significativement plus élevées dans les mésocosmes avec poissons que dans les mésocosmes sans poissons (Tableau 6, Fig. 23). Les densités de TEP sont 2,3 fois plus élevées dans les enclos avec poissons avec des valeurs comprises entre $1,3$ et $5,3 \times 10^6$ particules.l⁻¹ pour une moyenne de $2,8 \pm 1,2 \times 10^6$ particules.l⁻¹. Dans les enceintes sans poissons les valeurs s'échelonnent entre $0,39$ et $3,2 \times 10^6$ particules.l⁻¹ pour une moyenne de $1,2 \pm 0,56 \times 10^6$ particules.l⁻¹ (Fig. 23a). Les surfaces cumulées des TEP ont varié de $102,8$ à $466,2$ et de $49,4$ à $162,6$ mm².l⁻¹ pour des valeurs moyennes de $266,9 \pm 135,7$ et $97,9 \pm 38,6$ mm².l⁻¹ dans les enceintes avec poissons et sans poissons, respectivement (Fig. 23b).

2.3.1. Évolution saisonnière des TEP avec les communautés phytoplanctoniques

Les concentrations et la surface cumulée des TEP montrent une évolution saisonnière comparable et les valeurs sont fortement corrélées quelque soit le traitement ($r^2 = 0,80$, $P < 0,001$; $r^2 = 0,65$, $P < 0,001$ dans les enclos avec et sans poissons, respectivement). Les variations saisonnières des TEP sont importantes (Fig. 23). La densité maximale dans les enclos avec poissons ($5,3 \times 10^6$ particules.l⁻¹) est observée en octobre 2005 lorsque la biomasse phytoplanctonique est largement dominée par des chlorophycées de petite taille qui représentent 68,5% de la biomasse totale du phytoplancton. Ensuite, les concentrations diminuent et atteignent une valeur minimale en janvier ($1,3 \times 10^6$ particules.l⁻¹). A cette période une forte baisse de la température et de la concentration en chlorophylle *a* est enregistrée et le phytoplancton est dominé par les cryptophycées *Rhodomonas* sp. et *Cryptomonas ovata* qui représentent 73% de la biomasse totale du phytoplancton. Au printemps, parallèlement au développement des diatomées (45% de la biomasse phytoplanctonique en Mars et Avril), les densités de TEP augmentent progressivement pour atteindre un deuxième pic en juin ($3,99 \times 10^6$ particules.l⁻¹). Ce dernier correspond à une forte concentration en chlorophylle *a* ($9,3 \mu\text{g.l}^{-1}$) et à une très large contribution des chlorophycées qui forment alors 98% de la biomasse phytoplanctonique. La distribution des valeurs dans les enclos sans poissons est un peu différente de celle observée dans les enclos avec poissons (Fig. 23). Dans le traitement sans poissons, les densités de TEP sont minimales

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

en novembre 2005 ($0,54 \times 10^6$ particules.l⁻¹) coïncidant avec de faibles concentrations en chlorophylle *a* ($0,48 \mu\text{g.l}^{-1}$) et une communauté phytoplanctonique dominée par des chlorophycées (68% de la biomasse totale). Alors que la chlorophylle *a* atteint sa concentration maximale en mars ($4,4 \mu\text{g.l}^{-1}$), les densités de TEP restent stables de janvier à mai, le phytoplancton étant dominé par des cryptophycées (68,5% de la biomasse totale). Finalement, les densités maximales de particules sont notées en juin ($2,8 \times 10^6$ particules.l⁻¹) alors que la concentration en chlorophylle *a* est faible et le phytoplancton dominé par des chlorophycées (70.7% de la biomasse phytoplanctonique totale).

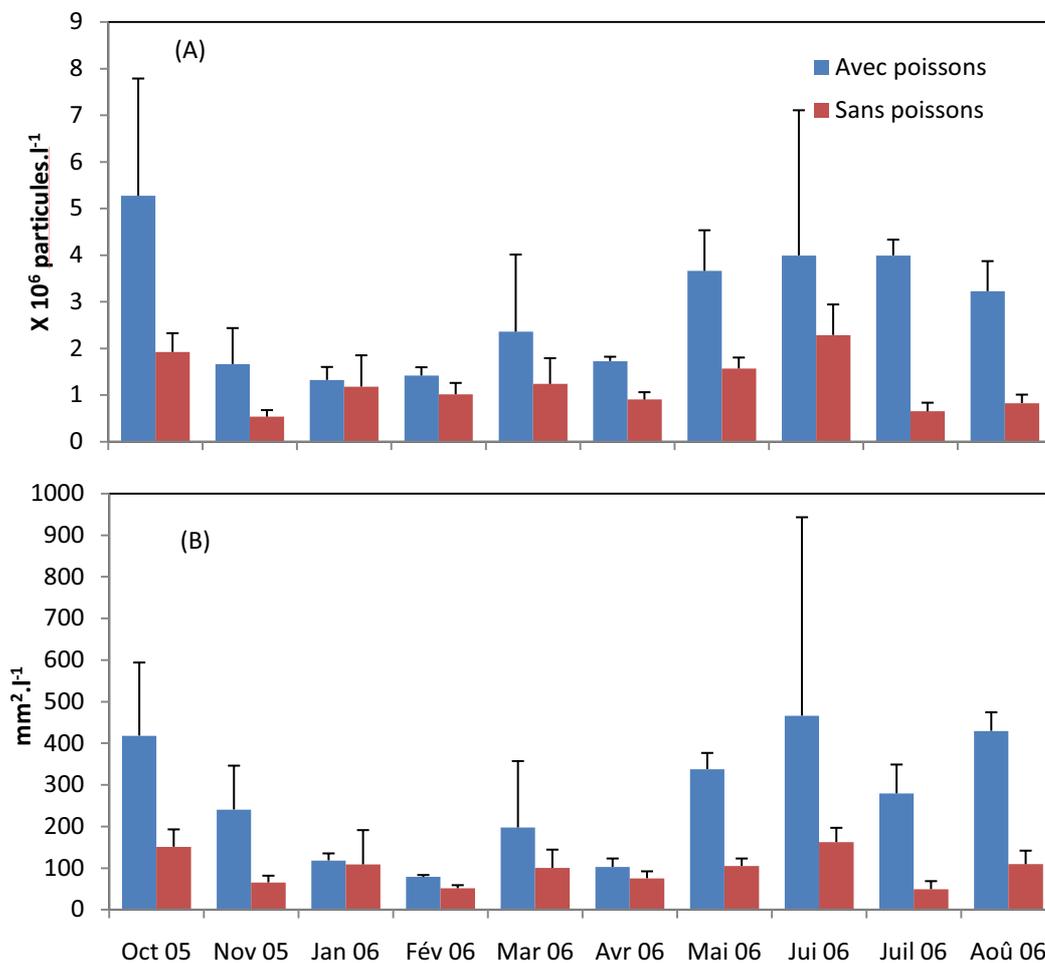


Figure 23. Distribution saisonnière de l'abondance (A) et de la surface cumulée (B) des TEP en fonction des traitements.

2.3.2. Distribution en taille et colonisation des TEP

Les valeurs du coefficient β déduites de régressions (voir méthodes et Fig. 24) ont pu être calculées pour 38 échantillons. La comparaison des valeurs indiquent que le spectre de

taille des particules a été significativement différent entre les deux traitements (ANOVA ; $F=8,75$; $P=0,007$). Les plus faibles valeurs de β dans les mésocosmes sans poissons ($\beta = 0,49 \pm 0,15$; $n=24$) indiquent que les particules ont une taille moyenne plus grosse que celles des enclos avec poissons ($\beta = 0,69 \pm 0,22$; $n=14$). Plus précisément, la proportion de particule de petite taille est plus élevée dans les enclos avec poissons que dans les enclos sans poissons.

La double coloration au bleu d'Alcian et au DAPI montre que la très grande majorité des TEP est colonisée par des bactéries quelque soit le traitement (96,3% et 97,1% dans le traitement avec et sans poissons, respectivement). Le nombre total de bactéries attachées est significativement plus élevé dans les mésocosmes avec poissons (Moyenne : $50,3 \times 10^3$ bactéries.ml⁻¹) que dans les mésocosmes sans poissons ($18,1 \times 10^3$ bactéries.ml⁻¹). Toutefois, la densité bactérienne rapportée à la surface des particules est identique dans les 2 types d'enclos (moyenne : $0,19 \pm 0,06$ et $0,19 \pm 0,07$ bactéries.µm⁻² dans les enceintes avec et sans poissons, respectivement).

2.4. Taux de sédimentation de la matière organique

Le taux de sédimentation est 4,5 fois plus élevé dans les enclos avec poissons que dans les enclos sans poissons ($7,8 \pm 13,1$ et $1,7 \pm 1,5$ g.m⁻².jour⁻¹, respectivement) (ANOVA, $F=10,52$, $P=0,002$) (Fig. 25). Pour les deux traitements, le taux de sédimentation est très faible en hiver (moyenne $0,49 \pm 0,07$ g.m⁻².jour⁻¹ entre janvier et mars). Dans les enclos avec poissons, ce taux atteint un premier pic en juin 2006 ($11,7 \pm 3,1$ g.m⁻².jour⁻¹) et un deuxième plus prononcé en août 2006 ($45,9 \pm 5,2$ g.m⁻².jour⁻¹). Dans les enclos sans poissons le taux de sédimentation augmente à partir du mois de mars et reste relativement stable pendant le printemps et l'été ($2,4 \pm 1,6$ g de poids sec.m⁻².jour⁻¹).

2.5. Relations entre les TEP, les variables biologiques, et le taux de sédimentation

L'abondance et la surface cumulée des TEP sont significativement corrélées à la concentration en chlorophylle *a* ($r^2=0,24$; $P=0,006$ - $r^2= 0,26$; $P=0,004$) et à la biomasse des chlorophycées ($r^2=0,47$; $P<0,001$ - $r^2=0,56$, $P<0,001$) dans les mésocosmes avec poissons. Dans les mésocosmes sans poissons, les abondances des TEP montrent des relations

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

hautement significatives avec la biomasse zooplanctonique totale ($r^2=0,44$; $P<0,0001$) et notamment, avec la biomasse des daphnies et des autres cladocères ($r^2=0,42$; $P<0,0001$ - $r^2=0,42$; $P<0,0001$).

Dans les enceintes avec poissons, le taux de sédimentation est significativement corrélé avec l'abondance et la surface cumulée des TEP ($r^2=0,26$; $P<0,001$ - $r^2=0,44$; $P<0,0001$) et également avec les concentrations en chl *a* et la biomasse phytoplanctonique ($r^2=0,6$; $P<0,0001$ - $r^2=0,51$; $P<0,0001$). En revanche, aucune de ces corrélations ($P>0.05$) n'a été enregistré dans les mésocosmes sans poissons. Sans distinction du traitement, le taux de sédimentation est corrélé avec les abondances des particules (Fig. 26) et la température de la colonne d'eau ($r^2=0,48$; $P<0,0001$).

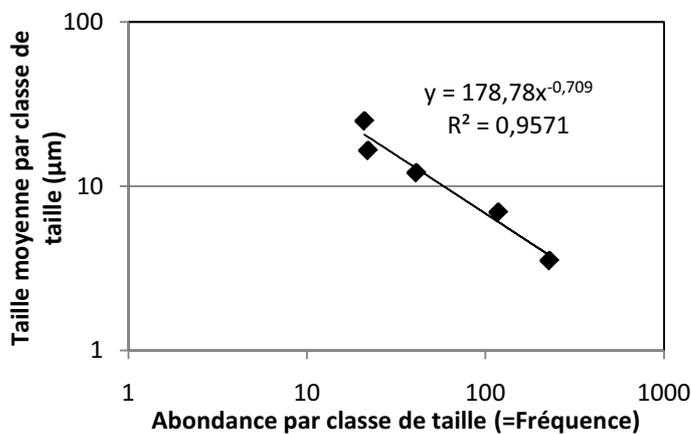


Figure 24. Exemple de régression entre la moyenne de la classe de taille (les classes de taille sont <5, 5-10, 10-15, 15-20 et >20µm) et la fréquence de cette classe permettant de calculer le coefficient β (mois d'octobre, enclos 5)

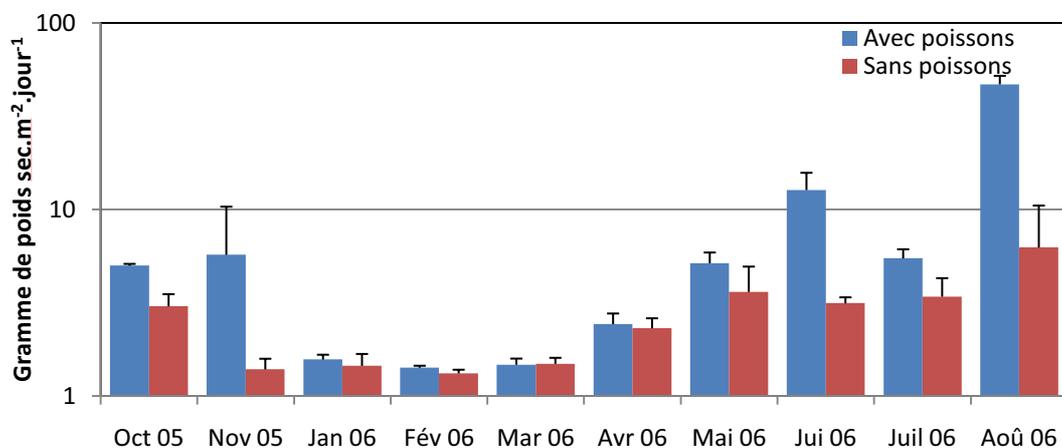


Figure 25. Distribution saisonnière du taux de sédimentation de la matière organique en fonction des traitements.

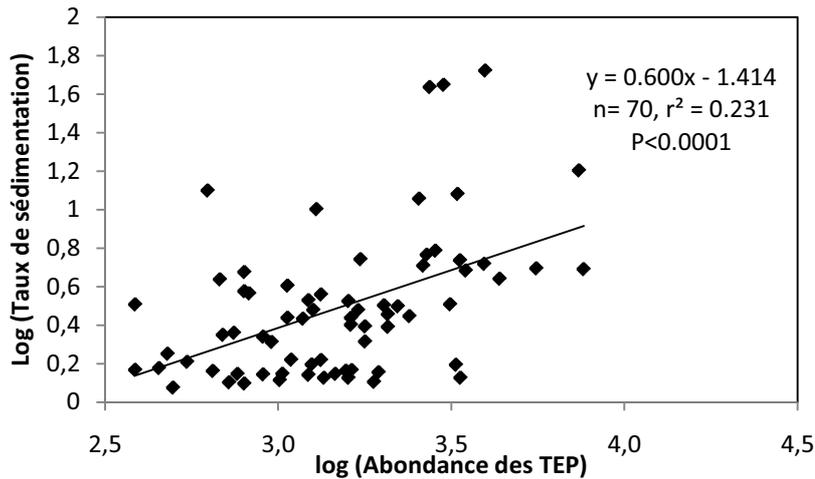


Figure 26. Relation entre la densité des TEP (particules.l⁻¹) et le taux de sédimentation (g.m⁻².jour⁻¹) pour l'ensemble des enclos et des dates de prélèvement (N = 70).

3. Discussion

3.1. Impact des poissons sur la structure du réseau trophique

Le but de notre étude a été d'étudier l'effet en cascade des poissons planctonophages sur le phytoplancton et la structure du réseau trophique microbien et les conséquences sur les TEP et la sédimentation de la matière organique. Les microcosmes et mésocosmes sont les seuls systèmes avec lesquels de nombreuses hypothèses peuvent être testées et expérimentées (Bell *et al.* 2003). Dans cette étude, l'expérimentation a été effectuée en mésocosmes qui présentent un intérêt important car les mesures se font à une échelle réaliste et représentative des conditions écologiques réelles. De même, la présence de 4 réplicats pour chaque traitement et la durée importante de l'expérience (10 mois) permettent l'obtention de résultats fiables et le plus représentatifs possible du fonctionnement de lacs eutrophes peu profonds.

La théorie des cascades trophiques est basée sur le fait que les poissons piscivores peuvent considérablement réduire les populations des poissons zooplanctonophages, ce qui modifie radicalement les communautés zooplanctoniques qui affectent alors, via leur broutage, les communautés phytoplanctoniques (Stewart *et al.* 1981). Il est souvent observé que la présence de poissons planctophages influence le zooplancton par réduction de sa biomasse ce qui va augmenter celle du phytoplancton (Brett et Goldman 1996). Cet effet est

plus important et plus clairement perceptible dans les lacs peu profonds que dans les lacs profonds (Jeppesen *et al.* 1997). Dans notre expérience l'effet des poissons s'est principalement manifesté par un changement dans la composition spécifique des communautés zooplanctoniques. Cet effet a déjà été constaté dans des expériences antérieures similaires (McQueen *et al.* 1986, Lazzaro *et al.* 1992, Bertolo *et al.* 1999).

3.1.1. Zooplancton

En accord avec différentes études antérieures (Braband *et al.* 1990, Lacroix *et al.* 1996, Bertolo *et al.* 1999) la prédation par le Gardon (*Rutilus rutilus*) a été le facteur principal de structuration des communautés zooplanctoniques par réduction de la taille moyenne du zooplancton herbivore ce qui a réduit le broutage sur le phytoplancton. Le Gardon chasse à vue et a donc tendance à choisir les individus zooplanctoniques de grande taille et présentant le mouvement le plus lent tels que les cladocères (du genre *Daphnia*) (Lacroix *et al.* 1996). Même si les autres cladocères étaient présents dans les enclos avec poissons ils étaient représentés par des espèces de moyenne et petite taille (*Bosmina*, *Ceriodaphnia* et *Diaphanosoma*) et formaient seulement 14,4% de la biomasse totale. Sous la pression de la prédation des gardons sur le zooplancton, les plus petites (rotifères) et les plus rapides espèces zooplanctoniques (calanoïdes) échappent en grand partie à la prédation des poissons et dominent fortement la communauté zooplanctonique (51,2% et 22,1% respectivement de la biomasse totale), ce qui confirme les résultats obtenues par Drenner *et al.* (1978), Lacroix *et al.* (1996) et Romo *et al.* (2004) (Fig. 27). Dans les enclos sans poissons, l'absence de pression de prédation permet la présence de cladocères de grande taille (40% de la biomasse totale) ce qui augmente l'impact du broutage sur le phytoplancton et diminue la biomasse de ce dernier (Lacroix *et al.* 1996). Dans son expérience, Neill (1988) a montré que les rotifères représentent un petit pourcentage du zooplancton en présence de cladocères tel que les Daphnies, ce qui est le cas dans notre étude (Fig. 28). De par la compétition pour les ressources alimentaires, les cladocères concurrencent fortement les rotifères (Pace *et al.* 1998) et peuvent même consommer les plus petits d'entre eux (Wetzel 2003). Il est donc logique d'observer une forte différence de la biomasse moyenne des rotifères entre les deux traitements (Fig. 27, 28).

3.1.2. Phytoplancton

Les résultats de notre expérience ont montré que le traitement poissons conduit à des fortes augmentations des concentrations en chl a , des densités d'algues et des biomasses phytoplanctoniques. L'effet indirect des poissons sur le phytoplancton, suite à l'élimination des micro-crustacés herbivores est une illustration classique des cascades trophiques (Carpenter et Kitchell 1993, Brett et Goldman, 1996, Bertolo *et al.*, 2000). Dans les mésocosmes dominés par les piscivores où les planctophages sont contrôlés, Bertolo *et al.* (2000) ont trouvé que la biomasse phytoplanctonique est réduite par le broutage du zooplancton à des niveaux similaires. Cette biomasse reste limitée même dans les conditions de disponibilité des nutriments à cause du contrôle («facteurs descendant») appliqué par le zooplancton (Bertolo *et al.* 1999).

La composition spécifique du phytoplancton est modifiée par la présence de poissons (Fig. 27, 28). La communauté phytoplanctonique dans les enclos avec poissons est dominée par des chlorophycées et est proche de celle du lac (données non présentées). La dominance de chlorophycées de petite taille souligne le caractère eutrophe du milieu et les aptitudes compétitives de ces taxons pour l'obtention de nutriments dans des conditions non limitantes en azote minérale (Reynolds 1984). Afin de réduire les pertes dues au broutage, le phytoplancton est capable de développer différentes adaptations. Ainsi, les espèces présentant une grande taille, ou des expansions, une faible digestibilité (Reynolds, 1984), une toxicité (Henning *et al.* 1991) ou un fort taux de croissance (Sternner 1989) sont en général peu consommées. La domination des cryptophycées dans les enclos sans poissons souligne le fait que ces taxons, qui ont un taux élevé de croissance (Sternner 1989, Sarnelle 2005), peuvent dominer la communauté phytoplanctonique sous une forte pression de broutage des cladocères.

3.1.3. Bactéries et protozoaires

Si l'effet du traitement est clair et significatif sur le phytoplancton, aucun effet n'a été détecté sur les densités et les biomasses des bactéries hétérotrophes et des protozoaires flagellés et ciliés. Généralement, les microorganismes de la boucle microbienne (bactéries, nanoflagellés hétérotrophes et les ciliés) sont contrôlés à la fois par les ressources («facteurs

ascendants») et par la prédation («facteurs descendants») (eg. McQueen *et al.* 1989, Horppila *et al.* 1998, Muylaert *et al.* 2002). Même si il y a eu un apport hebdomadaire en nutriments dans les enclos, la température homogène et l'absence de stratification thermique n'ont pas permis à la matière organique de se maintenir dans la colonne d'eau et ont conduit à un taux de sédimentation élevé, notamment dans les enclos avec poissons. Ainsi, cette faible disponibilité des nutriments pour les bactéries dans la colonne d'eau (facteurs ascendants) explique sans doute l'absence de différences significatives de leurs abondances entre les traitements. Toutefois, à certaines périodes de l'expérience (octobre, avril, mai et juillet), nous avons observé des différences significatives marquées (ANOVA ; $F=23,87$; $P=0,005$) dans les abondances des bactéries entre les traitements (Fig. 21) indiquant un effet poisson positif sur les communautés bactériennes. A ces périodes, on note également de fortes différences dans la biomasse phytoplanctonique entre les deux types d'enclos (Fig. 19b). Ceci suggère qu'à ces périodes, le carbone organique dissous provenant de l'excrétion du phytoplancton est la principale source de nutriment pour les bactéries dans les enclos avec poissons (eg. Bird et Kalff 1984, Cole *et al.* 1988, Painchaud et Therriault 1989).

Les protozoaires flagellés et ciliés sont considérés comme les principaux organismes bactérivores dans les milieux aquatiques (Sanders *et al.* 1992, Carrias *et al.* 1996, Sherr et Sherr 2002, Cuevas *et al.* 2004) et permettent ainsi, via le broutage du zooplancton, un transfert de la production picoplanctonique vers les niveaux trophiques supérieurs (Sherr et Sherr 2002, Weisse 2006). Bien qu'il existe des différences d'abondance des protozoaires entre les traitements, celles-ci sont ponctuelles et non-significatives indiquant clairement que dans les conditions de notre étude, la cascade trophique depuis les poissons planctonophages ne s'est pas propagé jusqu'aux communautés de protozoaires. L'impact du zooplancton sur les communautés de protozoaires est clairement observé pour de plus fortes biomasses de métazoaires (Marchessault and Mazumder 1997, Adrian *et al.* 2001, Zöllner *et al.* 2003). De plus, les protozoaires présentent une grande diversité de taille et de forme et une pression sélective des prédateurs peut conduire à une augmentation des taxons non consommés ce qui peut compenser les pertes et aboutir à une relative stabilité de l'abondance totale de la communauté (cf Sommer et Sommer 2006). La biomasse totale des protozoaires montre une relation positive et significative avec les bactéries ($r^2=0,13$,

$P=0.002$) alors qu'aucune relation n'est observée avec la biomasse du zooplancton ou des cladocères. Ceci confirme que dans les conditions de notre expérience, les effets ascendants ont été déterminants pour la réponse des protozoaires, alors que les effets descendants (cascade trophique) ont sans doute été très faibles. Sur ce point, une analyse des communautés de protozoaires par classes de taille, voir par groupe fonctionnel, permettrait de tester l'hypothèse de la sélectivité du zooplancton sur ces proies.

3.2. Impact des traitements sur les TEP

3.2.1. Relations entre les TEP et le plancton

Nos résultats montrent clairement que les poissons planctonophages induisent par cascade un effet positif sur les TEP, l'abondance et la surface cumulée de ces particules étant significativement plus élevées dans les enclos avec poissons que dans les enclos sans poissons (Fig. 27, 28). Les fortes corrélations entre les TEP (abondance et surface cumulée) et la chl *a* ou la biomasse phytoplanctonique confirment l'origine phytoplanctonique des TEP comme cela a été souligné par plusieurs auteurs (eg : Passow et Alldredge 1994, Kiørboe et al. 1998, Mari et Burd 1998, Carrias *et al.* 2002, Beauvais *et al.* 2003, Arnous *et al.* 2010). L'effet des poissons planctonophages sur les TEP est probablement double. D'une part, par le contrôle du zooplancton herbivore, les poissons induisent une augmentation de la biomasse phytoplanctonique, conduisant à une augmentation de l'excrétion phytoplanctonique et par voie de conséquence à une augmentation des TEP. D'autre part, le mouvement actif des gardons a certainement augmenté la turbulence et la turbidité de la colonne d'eau des enclos, conduisant ainsi à une augmentation des TEP et des concentrations en nutriments disponibles pour le phytoplancton. Cet effet des poissons sur la turbulence et le phytoplancton a été noté par Brabrand *et al.* (1986) et Horppila et Kairesalo (1992) dans des enclos limniques installés dans des lacs eutrophes. Par l'augmentation du taux de croissance des diatomées qui exsudent activement les précurseurs des particules, Beauvais *et al.* (2006) ont noté que la turbulence a un effet indirect positif sur les concentrations des TEP.

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

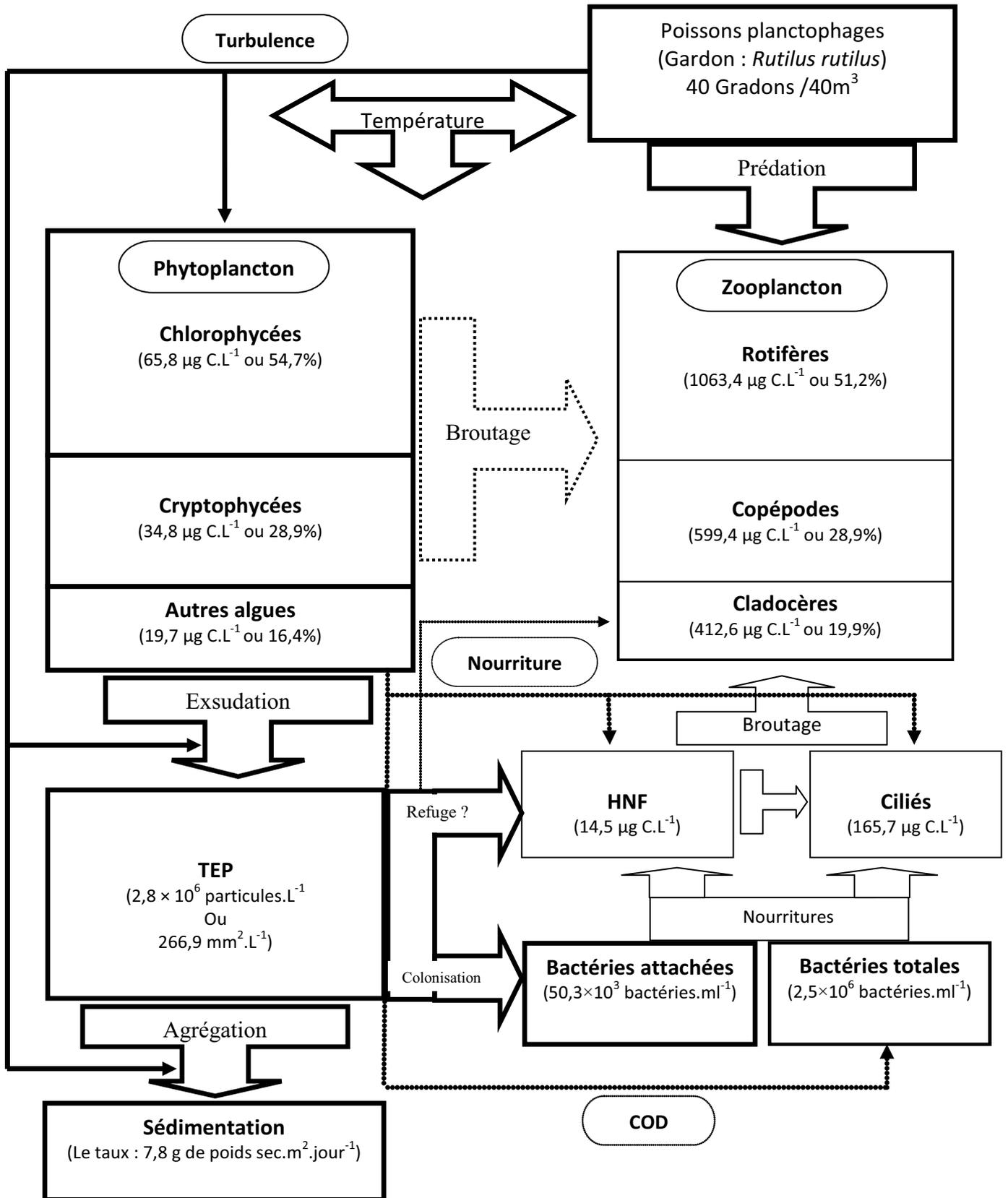


Figure 27. Illustration schématique du réseau d'interactions dans les enclos avec poissons. Les valeurs dans chacun des blocs représentent l'équivalent en microgramme du carbone par litre. HNF : nanoflagellés hétérotrophe; COD : carbone organique dissous; TEP : particules d'exopolymères transparentes.

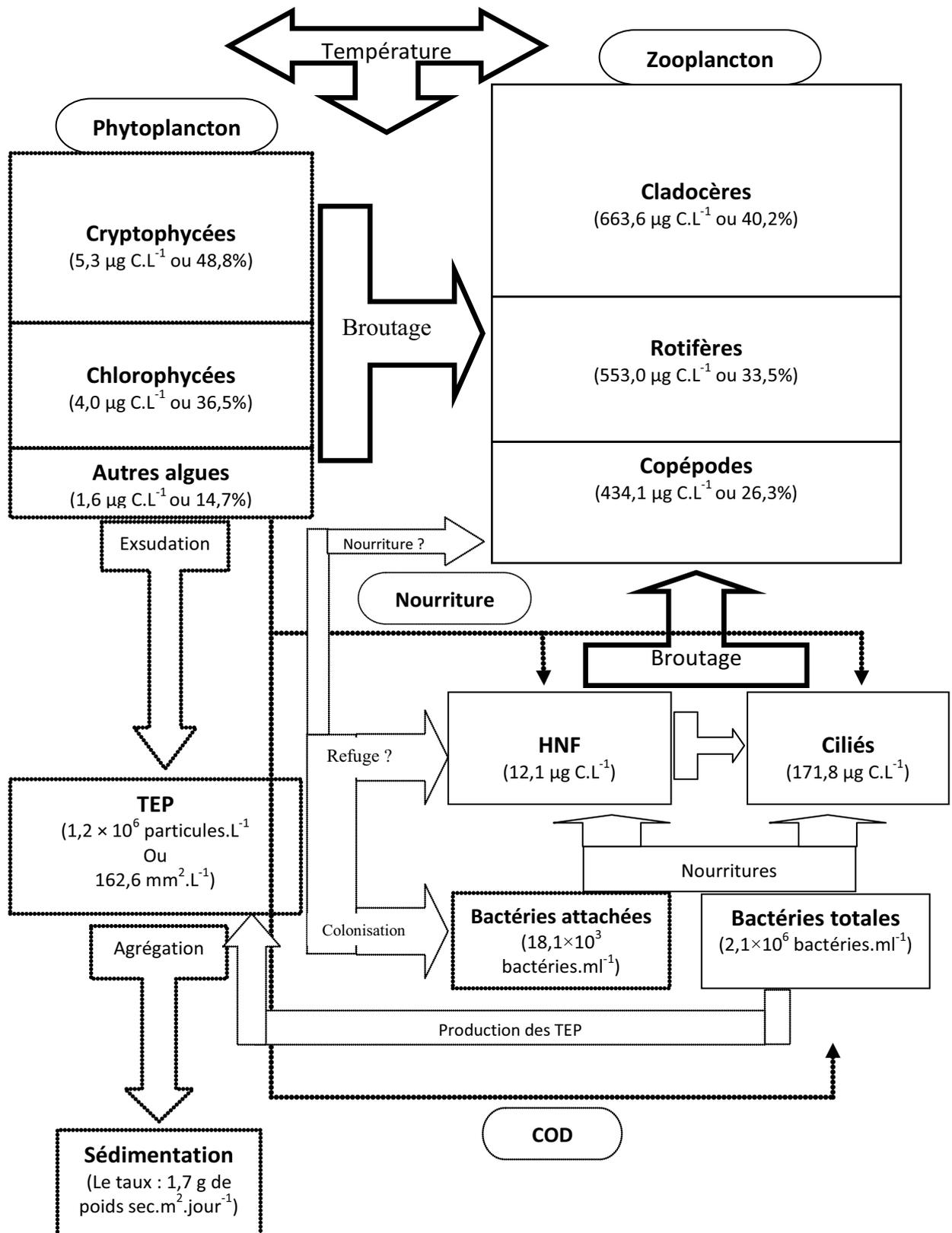


Figure 28. Illustration schématique du réseau d'interactions dans les enclos sans poissons. Les valeurs dans chacun des blocs représentent l'équivalent en microgramme du carbone par litre. HNF : nanoflagellés hétérotrophe; COD : carbone organique dissous; TEP : particules d'exopolymères transparentes.

Dans les enclos avec poissons le phytoplancton est dominé par les chlorophycées (54,7±39,7% de la biomasse phytoplanctonique totale) et les concentrations en TEP sont fortement corrélées avec la biomasse de ce groupe phytoplanctonique. De plus, les deux pics de particules enregistrés en juin dans les deux traitements coïncident avec une biomasse de phytoplancton largement dominée par des chlorophycées (98% et 70,7% de la biomasse phytoplanctonique totale dans les enclos avec et sans poissons, respectivement). Nos résultats montrent que les chlorophycées constituent la principale origine de ces particules au cours de notre expérience. Généralement, les diatomées, les dinoflagellées et les cryptophycées sont considérées comme les groupes phytoplanctoniques les plus productifs en TEP en milieu marin (Alldredge *et al.* 1993, Passow et Alldredge 1994, Kozlowski et Vernet 1995, Passow *et al.* 1995, Mari et Burd 1998, Passow 2002). Les quelques études réalisées en eau douce indiquent que les diatomées, les cyanobactéries et les dinoflagellés sont capables de produire de grandes quantités de TEP (Mari et Kiørboe 1996, Grossart *et al.* 1998, Berman et Viner-Mozzini 2001, Carrias *et al.* 2002, Arnous *et al.* 2010). À notre connaissance, il n'y a pas d'études in situ concernant l'implication des chlorophycées dans la production de TEP. En milieu marin l'importance des chlorophycées dans la biomasse phytoplanctonique est le plus souvent insignifiante, alors qu'en milieu lacustre, les TEP ont été étudiées soit pendant le bloom printanier des diatomées (Carrias *et al.* 2002, Arnous *et al.* 2010), soit pendant une année complète (Berman et Viner-Mozzini 2001) mais sans jamais une nette domination de chlorophycées. En considérant le rapport TEP/Chl *a*, nos résultats suggèrent que les chlorophycées produisent moins de TEP que les diatomées. Le rapport TEP/Chl *a* au lac Pavin pendant la période où les diatomées sont dominantes (96% de la biomasse totale) est en effet 7 fois plus élevé que celui calculé au cours de cette expérience lorsque les chlorophycées dominent largement le phytoplancton dans les enclos avec poissons. En revanche, le rapport TEP/Chl *a* dans les enclos est proche de celui enregistré dans le réservoir de Grangent lorsque les cyanobactéries dominent le phytoplancton (88% de la biomasse totale). Claquin *et al.* (2008) ont montré que la chlorophycée marine *Pavlova lutheri* est la moins productive en TEP par rapport à 7 autres taxons testés (3 taxons de diatomées, 3 de Prymnésiophycées et 1 de Dinophycée). Des expériences en laboratoire devraient permettre de vérifier si la production de TEP par les chlorophycées d'eau douce

est aussi forte que celle enregistrée dans le cadre de notre expérience et équivalente à celle de taxons marins.

Dans les enclos sans poissons, le zooplancton a une forte influence sur la production de TEP. Les cladocères (40,2% de la biomasse zooplanctonique totale) appliquent une pression de broutage très importante sur le phytoplancton ce qui diminue la production de TEP. De plus, les TEP peuvent être consommées directement par le zooplancton, notamment par les cladocères. Plusieurs études ont en effet montré que les cladocères peuvent ingérer les particules organiques pour se nourrir du carbone organique ou même des bactéries attachées à ces particules (Schoenberg et Maccubbin 1985, Šmek *et al.* 1990, Vaqué et Pace 1992). Lorsque les cellules phytoplanctoniques viennent à manquer dans la colonne d'eau, les cladocères sont capables d'augmenter leur taux de filtration (Burns et Rigler 1967, Karen *et al.* 1983) ce qui peut diminuer conséquemment la quantité de TEP dans l'eau. Cette action directe du zooplancton sur les particules n'est pas corroborée par nos résultats. En effet, il existe une corrélation positive et hautement significative entre la biomasse du zooplancton total et l'abondance des TEP dans les enclos sans poissons alors qu'aucune relation n'est observée entre les particules et le phytoplancton. Ceci suggère que le zooplancton est impliqué directement dans la production de TEP dans ce traitement et non directement dans la diminution des particules. Comme cela a été noté dans la littérature, l'activité de broutage du zooplancton peut favoriser la production des TEP de par le « sloppy feeding ». Lors du broutage du zooplancton sur les cellules phytoplanctoniques, des substances intracellulaires sont libérées et rejoignent le pool de MOP ce qui ensuite augmente la production de TEP (Passow 2002). De même, Le zooplancton est capable de découper et fragmenter les TEP de grande taille en particules plus petites (Dilling et Alldredge 2000) ce qui augmente l'abondance des TEP et peut donc conduire à des relations positives entre les abondances des particules et du zooplancton.

Aucune relation significative entre les abondances de TEP et de bactéries libres n'a été observée, que ce soit pour l'ensemble de nos données, ou en considérant chaque traitement. Toutefois, pour les périodes (octobre, avril, mai et juillet) où nous avons enregistré des différences significatives dans les abondances bactériennes entre les traitements, ces dernières présentent une corrélation hautement significative ($r^2=0,50$; $n=16$; $P=0,002$) avec l'abondance des TEP. Ceci laisse supposer que les bactéries pourraient

ponctuellement être à l'origine des TEP, ces dernières ne montrant aucune relation avec le phytoplancton pour les périodes considérées. Généralement, aucune relation entre l'abondance des bactéries et l'abondance des TEP n'est observée in situ (Passow et Alldredge 1995, Schuster et Herndl 1995, Passow *et al.* 2001, Passow 2002) bien que de grandes quantités de TEP soit produites par des bactéries en culture (Stoderegger et Herndl 1998, Grossart 1999).

Nos résultats montrent clairement que la température de l'eau est le principal facteur de régulation de la croissance et de l'activité microbienne (Pomeroy et Wiebe 1993, Rivkin *et al.* 1996) et par conséquent de la production de particules. La diminution de la température et de la lumière en hiver réduit également l'activité des poissons (Persson 1986). Ainsi, les différences d'abondances des communautés entre les deux traitements pendant l'hiver atteignent un minimum. La production de TEP qui dépend des facteurs biologiques tels que les poissons, le phytoplancton et le zooplancton diminue également pendant cette période. En culture, la production des TEP est généralement fortement liée à l'augmentation de la température (Claquin *et al.* 2008). Au cours de notre étude, les différences dans les abondances de particules entre les deux traitements sont de plus en plus marquées avec l'augmentation de la température de la colonne d'eau à partir de mois de mars, indiquant un effet de plus en plus important des poissons sur la structure du réseau trophique et indirectement sur les TEP.

3.2.2. Distribution en taille des TEP

La distribution en taille des TEP indique que les particules ont une taille moyenne plus élevée dans les enclos sans poissons que dans les enclos avec poissons. Cette différence peut être liée à la différence de composition du phytoplancton qui est largement dominé par les chlorophycées dans les enclos avec poissons et par les cryptophycées dans les enclos sans poissons. La composition et la taille des TEP en milieu marin dépendent de l'espèce phytoplanctonique dominante (Kepkay 2000, Passow 2000) mais aucune règle générale ne peut être tirée des expériences réalisées (Passow 2002). La diminution des TEP de petite taille dans les enclos sans poissons peut également être le résultat du broutage par le zooplancton. Les cladocères filtreurs tels que les *Daphnia* présents dans les enclos sans poissons se nourrissent préférentiellement dans une gamme de taille de particules comprise

entre 1 et 7 μm (Karen *et al.* 1983) et sont donc susceptibles de modifier le spectre de taille des TEP. En milieu marin, Passow et Alldredge (1994) ont noté que la composition du zooplancton et les bactéries ont une influence sur la distribution en taille des TEP. Nos résultats ne montrent pas de différences significatives dans la colonisation bactérienne entre les deux types d'enclos ce qui conforte l'hypothèse de la filtration et de l'ingestion des TEP de petite taille par les cladocères comme principal facteur expliquant la différence de spectre de taille des particules entre les traitements.

3.2.3. Relations entre les TEP et le taux de sédimentation

La présence des poissons planctonophages dans les enclos limniques a conduit à des changements profonds sur le processus de sédimentation. En accord avec des études réalisées dans des lacs eutrophes (Bürge *et al.* 1979, Sarnelle 1992, 1999, Vanni *et al.* 1997), nos résultats indiquent que le taux de sédimentation est plus élevé dans les enclos dominés par les poissons planctonophages. Ces résultats sont également comparables aux valeurs enregistrées par Bloesch et Bürge (1989) qui ont noté des grandes différences en matières sédimentées entre l'été et l'hiver (5-10 et $<2\text{g de poids sec.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$ en été et en hiver, respectivement). La tendance saisonnière montre clairement que la sédimentation dans nos systèmes est principalement attribuée à des processus biologiques qui sont influencées fortement par la température, le taux de sédimentation était fortement corrélé avec la température de la colonne d'eau.

Dans les enclos avec poissons, les corrélations significatives entre la densité des TEP ou les concentrations en Chl *a* ou la biomasse phytoplanctonique et le taux de sédimentation montrent que le phytoplancton et les TEP sont des facteurs importants et essentiels pour les processus de sédimentation. Le phytoplancton forme essentiellement la matière organique sédimentée ou les agrégats (Grossart *et al.* 1997) et il produit également les TEP en milieu pélagique. Les TEP ont une importance double pour la sédimentation car, dû à leur fort coefficient d'adhésion, elles peuvent faciliter la formation et la sédimentation d'agrégats (à partir d'éléments du phytoplancton, des pelotes fécales, des carcasses de zooplancton et/ou de particules inorganiques) et également contribuer elles-mêmes directement au flux de carbone (Passow 2002). Dans le traitement poisson, l'abondance élevée du phytoplancton et des TEP, l'augmentation du seston (données non présentées) et

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

la turbulence de l'eau liée au mouvement des poissons ont donc conduit à un fort taux de sédimentation. Newton *et al.* (1994) et Passow *et al.* (2001) ont montré que le taux élevé de sédimentation de MOP suite aux efflorescences de phytoplancton est associé à un taux élevé de sédimentation des TEP. Une turbulence modérée favorise la formation d'agrégats d'une taille >40µm et la sédimentation, par contre une forte turbulence diminue la sédimentation par le maintien de la matière en voie de sédimentation dans la colonne d'eau (Beauvais *et al.* 2006). Dans les enclos sans poissons, la diminution de la biomasse phytoplanctonique et de l'abondance des TEP a conduit à une baisse de la biomasse totale des matières sensibles à la sédimentation. Sarnelle (1999), au cours d'une expérience similaire à la notre, a remarqué que les daphnies avaient un effet négatif sur le taux de sédimentation en diminuant la biomasse phytoplanctonique dans la colonne d'eau ce qui diminue les matières en voie de sédimentation.

A partir de notre expérience et des relations obtenues entre l'abondance ou la surface des TEP et le taux de sédimentation du carbone ($n=70$; $r^2=0,19$; $P<0,0001$ et $r^2=0,33$; $P<0,0001$, respectivement), nous pouvons en déduire la relation existante entre les TEP et le carbone sédimenté par les équations suivantes :

$$\text{Log (T. S. C)} = 0,402 \times \log (\text{TEP}_{ab}) - 1,067$$

$$\text{Log (T. S. C)} = 0,471 \times \log (\text{TEP}_{sc}) - 2,195$$

Avec: T.S.C : le taux de sédimentation de carbone exprimé en $\text{g C m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$; TEP_{ab}: Abondance des TEP et TEP_{sc} : la surface cumulée des TEP.

De ces équations, nous pouvons théoriquement estimer la quantité de carbone sédimentée dans la colonne d'eau d'un lac eutrophe dominée par les chlorophycées pour une abondance ou une surface cumulée donnée de TEP. Ces dernières peuvent en effet être considérées comme un bon indicateur du taux de sédimentation du carbone en raison de leur rôle prépondérant dans le processus de sédimentation (De Vicente *et al.* 2009). Nos travaux ne permettent pas de connaître la contribution exacte des TEP dans l'exportation de carbone vers les sédiments. En milieu marin, certains auteurs (Mari 1999, Engel et Passow 2001) considèrent que la teneur en carbone des TEP est du même ordre de grandeur que celle du phytoplancton. Cela souligne le fait que les TEP ne sont pas seulement un agent de la sédimentation de la matière organique d'origine planctonique, mais qu'elles contribuent directement et de façon significative au flux de carbone vers les sédiments (Passow 2002). Dans le réservoir oligotrophe Quentar en Espagne, en utilisant le facteur de conversion de

Chapitre V: Effet de la structure du réseau trophique aquatique sur la dynamique des TEP et des microorganismes et sur la sédimentation de la matière organique

0,75 $\mu\text{g C } \mu\text{g XG l}^{-1}$ proposé par Engel et Passow (2001), De Vicente *et al.* (2009) ont estimé que les TEP contribuent de 0,02 à 31% (moyenne : 9,12%) à l'exportation de carbone vers les sédiments. Cette contribution est approximativement de 30% dans le canal de Santa Barbara (Passow *et al.* 2001). Engel et Passow (2001) ont proposé ce facteur de conversion à partir de cultures de diatomées marines et ont souligné que la production et la composition de TEP sont spécifiques à l'espèce (Passow 2002). Ces études ne considèrent pas la dégradation des TEP et des agrégats par les bactéries et les autres microorganismes tout au long de la colonne d'eau, dégradation qui peut largement varier en fonction de la profondeur et du niveau trophique du milieu. Ainsi, ces estimations de la contribution des TEP dans l'exploration de carbone restent toujours approximatives.

Chapitre : VI

**Discussion générale et
perspectives**

Chapitre VI: Discussion générale et perspectives

Depuis la découverte des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) par Alldredge *et al.* (1993), de nombreuses études se sont intéressées à ces particules et à leur importance et à leur rôle dans les milieux aquatiques, mais la plupart d'entre elles ont été réalisées en milieu marin (eg : Passow et Alldredge 1994, Passow *et al.* 1994, Mari et Kiørboe 1996, Mari et Burd 1998, Passow *et al.* 2001, Krembs et Engel 2001, Engel 2002, Radić *et al.* 2005, Bar-Zeev *et al.* 2009). Les travaux en eau douce restent généralement rares (Grossart *et al.* 1997, Berman et Viner-Mozzini 2001, Carrias *et al.* 2002, De Vincente *et al.* 2009) et sont le plus souvent limités dans le temps (Brachvogel *et al.* 2001, Carrias *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2006).

Nos travaux de recherche présentés dans ce mémoire sont une contribution à la connaissance de l'importance des Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP) en milieu pélagique lacustre. En raison du manque de données *in situ*, nous avons privilégié des analyses en milieu naturel (Lac Pavin et réservoir Grangent) et en conditions semi-contrôlées (enclos limniques installés sur le lac de Créteil). L'accent a été mis sur l'évolution saisonnière des TEP et leur relation avec le phytoplancton et les autres organismes du réseau trophique. La colonisation bactérienne des TEP, qui nécessite une analyse très précise de chaque particule présente, et qui a fait l'objet d'études précédentes au sein de notre laboratoire (Carrias *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2006), a été considérée dans une étude printanière au lac Pavin (Arnous *et al.* 2010) afin de tester son influence sur la répartition verticale des protozoaires flagellés. Elle a été aussi considérée dans le réservoir de Grangent mais n'a pas été incluse dans le cadre de ce mémoire. Nos travaux contribuent de manière significative à la connaissance de la dynamique et du rôle de ces particules dans les milieux pélagiques lacustres sous climat tempéré. Ils soulignent l'importance de ces particules, dont les abondances sont le plus souvent proches de celles du bactérioplancton, et qui interviennent à différents niveaux dans le fonctionnement de l'écosystème.

Les résultats issus de l'étude printanière réalisée deux années consécutives (2005 et 2006) au lac Pavin et de la biomanipulation des communautés sur le lac de Créteil, démontrent que la majorité des particules polysaccharidiques présentes en milieu naturel sont d'origine phytoplanctonique. Les TEP augmentent significativement avec l'augmentation

de la chl *a* pendant la phase de croissance des diatomées dans le lac Pavin et leur distribution verticale est étroitement liée aux concentrations en chl *a*. Dans les enclos ayant subis un traitement poissons, les TEP présentent des abondances et des surfaces cumulées fortement liées aux concentrations en chlorophylle *a*. Ce type de relations a été noté précédemment sur le lac Pavin (Carrias *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2006), mais également en milieu marin (Hong *et al.* 1997) et dans des études réalisées au laboratoire (Passow et Alldredge 1995, Passow 2002). Cette relation n'a toutefois pas été observée lors des études annuelles menées sur le lac Pavin et le réservoir de Grangent au cours de l'année 2007. L'importante fréquence d'échantillonnage dans ces études montrent clairement qu'il existe un décalage dans le temps entre les pics de chlorophylle *a* et les pics d'abondance de particules, conduisant à l'absence de corrélation entre ces variables. Nos données indiquent que le maximum d'abondance des TEP apparaît 1 mois après le maximum de chlorophylle *a* enregistré, ce dernier correspondant le plus souvent à un développement phytoplanctonique à forte tendance monospécifique. Dans le lac Pavin, les abondances et concentrations élevées de TEP coïncident avec la présence de diatomées de grande taille (essentiellement *Asterionella formosa* et *Aulacoseira italica*) au printemps et en automne et avec les chlorophycées *Chodatella ciliata* et *Oocystis lacustris* à la fin de l'été. Dans le réservoir hypereutrophe de Grangent, les valeurs maximales de TEP (abondance et concentration) ont été notées pendant l'été où la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa* domine très largement le phytoplancton. Dans les enclos avec poissons l'abondance des TEP et la biomasse des chlorophycées, qui sont largement dominées par *Chlamydomonas* sp. et *Monoraphidium* sp. sont fortement corrélées. Ponctuellement cependant, il apparaît que l'abondance des TEP dans les enclos est liée aux densités bactériennes, suggérant que ces dernières pourraient contribuer au pool de particules de par leur excrétion. Cette hypothèse est à confirmer, notamment à partir d'études réalisées au laboratoire. Les bactéries peuvent utiliser les TEP comme substrat ce qui peut conduire à une relation positive entre leur densité et celle des TEP sans qu'il y ait pour autant une excrétion de particules de leur part. De la même façon, nos travaux suggèrent que le zooplancton, bien qu'il ait un effet indirect négatif sur les TEP de par son broutage sur le phytoplancton, peut sans doute contribuer à la formation de TEP et influencer le spectre de taille de ces dernières. Ces hypothèses pourraient être vérifiées à l'avenir par des biomanipulations au laboratoire à partir de cultures d'algues et d'élevage de zooplancton (*Daphnia* par exemple).

En considérant les valeurs moyennes de chlorophylle *a* et d'abondance des TEP (Fig. 29), on observe une tendance générale de l'augmentation de la production de TEP avec la productivité de l'écosystème aquatique comme cela a été souligné par différentes études antérieures (Passow et Alldredge 1994, Schuster et Herndl 1995, Søndergaard et Middelboe 1995, Worm et Søndergaard 1998, Carrias *et al.* 2002, Prieto *et al.* 2006, Lemarchand *et al.* 2006). Cependant, il apparaît que la production de TEP par unité de chlorophylle *a*, exprimé par le rapport TEP/Chl *a*, tend à diminuer avec l'augmentation du niveau trophique du milieu. Ce rapport est en effet plus élevé dans le lac Pavin que dans les autres lacs (Grangent et Créteil) et que dans les enclos (Fig. 30). Ces résultats suggèrent que les populations d'algues dans le lac Pavin ont un taux individuel d'exsudation des précurseurs de TEP plus élevé que celui des algues des autres lacs. Ceci confirme l'idée selon laquelle les diatomées produisent plus de TEP que les autres groupes phytoplanctoniques, telles que les cyanobactéries et les chlorophycées. En milieu marin, Prieto *et al.* (2006) ont enregistré un rapport TEP/Chl *a* également plus élevé dans les eaux oligotrophes que dans les eaux eutrophes, sans toutefois indiquer de relations avec des taxons phytoplanctoniques. Si ces caractéristiques sont corroborées par une étude réalisée sur des cultures d'algues marines (Claquin *et al.* 2008), aucun travail n'est disponible en eau douce soulignant ainsi la nécessité de mesurer la production individuelle de particules par différents taxons lacustres en cultures axéniques.

Les analyses du spectre de taille des TEP pour l'ensemble des milieux étudiés indiquent que ces particules ne sont pas dans un état d'équilibre tel qu'il a été défini par McCave (1984). Les régressions significatives entre le nombre de particules et leur diamètre sphérique équivalent moyen représentent 64% des échantillons et les valeurs du coefficient β calculées à partir des régressions significatives sont toujours inférieures à 3, valeur seuil de l'état d'équilibre (McCave 1984). Les valeurs β calculées pour les différents sites sont proches avec une moyenne de $0,64 \pm 0,34$. Cette faible valeur indique une augmentation de la fraction de grandes particules et une réduction de la contribution des petites particules. Ce type de distribution peut être interprété comme une indication d'un processus d'agrégation (Passow et Alldredge 1994, Mari et Kiørboe 1996). Cela suggère que les TEP lacustres sont constamment impliquées dans les processus de formation d'agrégats.

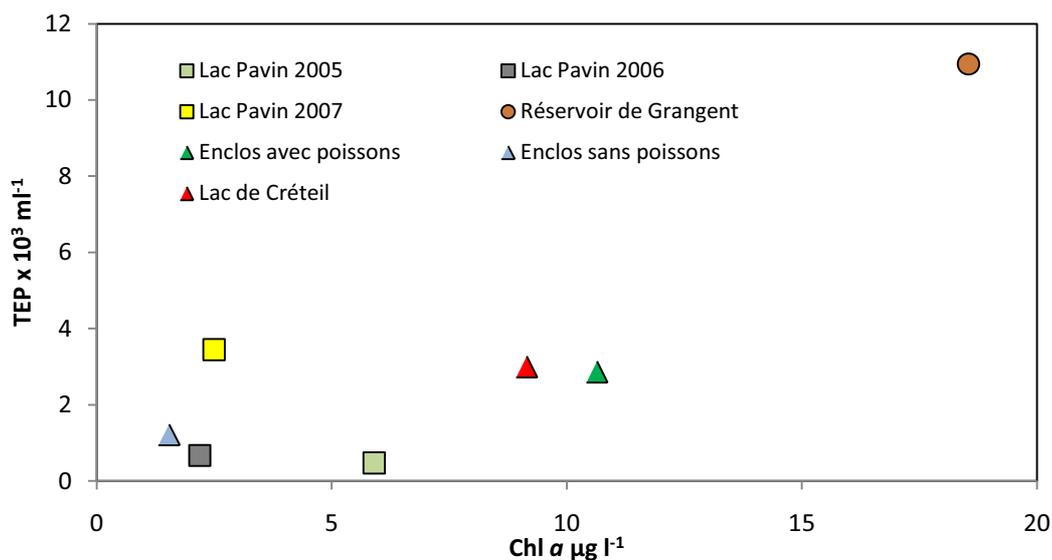


Figure 29. Abondance moyennes des densités de TEP en fonction des concentrations en chl α pour les lacs étudiés et les enclos du lac de Créteil.

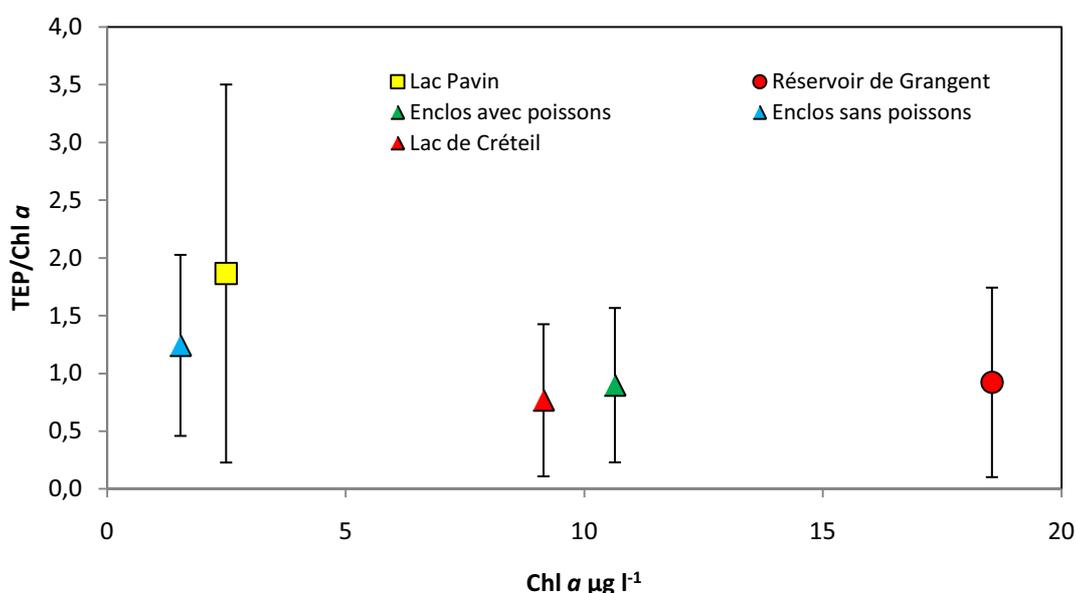


Figure 30. Production de TEP par unité de chl α en fonction des lacs étudiés et des enclos du lac de Créteil.

La majorité des TEP sont colonisées par les bactéries qui constituent 0,1-18,66% de bactéries totales colorées au DAPI. Au cours de l'étude printanière au lac Pavin (Arnous *et al.* 2010) nous avons observé que l'intensité de colonisation bactérienne des TEP (constante a) est fortement liée à la température et diminue avec l'augmentation en taille des TEP. Cette relation est aussi vérifiée au réservoir de Grangent à partir des données d'abondance sur de l'étude annuelle (Données non présentées dans ce mémoire). Les TEP servent de substrat privilégié aux bactéries et l'activité enzymatique et la croissance des bactéries sur ces

supports polysaccharidiques sont plus élevées que dans le milieu environnant (Blackburn *et al.* 1997, Lemarchand *et al.* 2006). Les bactéries attachées aux TEP jouent donc un rôle important dans la transformation du carbone organique de sa forme particulaire vers la forme dissoute (Smith *et al.* 1995, Radić *et al.* 2006). Les TEP sont un site pour l'absorption de nombreuses substances comme les acides aminés et les métaux traces tels que le manganèse et le fer (Alldredge *et al.* 1993, Passow *et al.* 1994, Niven *et al.* 1997, Schuster *et al.* 1998, Beauvais 2003, Kirchman *et al.* 2003). Les bactéries trouvent donc une source de carbone par la dégradation des sucres, des nutriments ou encore des éléments métalliques mais également un refuge contre les prédateurs (Kiorboe *et al.* 2001).

À notre connaissance, l'influence des TEP et des bactéries associées sur les protozoaires n'a jamais été évaluée et les travaux sur les interactions entre les protozoaires et les agrégats sont rares (Caron *et al.* 1986, Zimmermann-Timm *et al.* 1998, Grossart et Ploug 2001). Nos résultats issus de l'étude printanière menée au lac Pavin (Arnous *et al.* 2010) montrent clairement que les nanoflagellés hétérotrophes sont plus étroitement liés aux TEP qu'aux bactéries, leurs principales proies. Nous avons pu également observer que cette relation avec les TEP est aussi vérifiée à partir des données issues des études annuelles menées sur le lac Pavin et le réservoir de Grangent en 2007 ($n=21$, $r^2=0,4$, $P=0,002$; $n=19$, $r^2=0,41$, $P=0,004$ respectivement). La distribution des HNF est donc fortement liée à celle des TEP, non seulement pendant l'efflorescence printanière des diatomées au lac Pavin, mais également au cours de toute l'année dans les deux lacs. Des études antérieures sur les agrégats organiques en milieu pélagique ont émis l'hypothèse que les particules pouvaient être impliquées dans la croissance de certaines espèces de HNF de par le broutage de ces derniers sur les bactéries associées aux particules (Caron *et al.* 1982, 1986). Nos analyses ne montrent pas de relation significatives entre l'abondance totale des HNF ou des différents groupes d'HNF et la colonisation bactérienne des particules (constante a) et ce, aussi bien au lac Pavin qu'au réservoir de Grangent. Ceci souligne que l'intensité de colonisation des TEP intervient peu dans le contrôle des HNF et que les TEP jouent un rôle différent de celui préalablement considéré. Ces particules gélatineuses peuvent probablement constituer un microhabitat pélagique qui protège les HNF contre la prédation des ciliés et des métazoaires. En outre, les TEP les plus petites peuvent être une source de nourriture alternative pour les HNF (cf. Sherr 1988) pendant les périodes de faible densité bactérienne et/ou de concurrence importante entre les taxons bactériovores. Des études supplémentaires sur

l'abondance et la composition des HNF et l'abondance des TEP et leurs bactéries associées dans différents environnements pélagiques, sont nécessaires pour confirmer ces observations et préciser le rôle des TEP dans la dynamique des nanoflagellés hétérotrophes.

En milieu pélagique, une fraction importante du carbone assimilé par les producteurs primaires est donc transférée vers le pool de TEP. Celles-ci sont à l'origine d'une voie majeure de transfert du carbone via la formation d'agrégats de la zone euphotique vers les eaux profondes et les sédiments. Les TEP sont les principales responsables de la sédimentation des floraisons phytoplanctoniques et elles modifient la stœchiométrie générale de la matière organique particulaire (Newton *et al.* 1994, Passow *et al.* 2001, Beauvais *et al.* 2003, Engel *et al.* 2004). La production primaire n'est donc pas limitée à la production de biomasse mais inclue aussi les produits extracellulaires tels que la matière dissoute riche en carbone et les TEP (Beauvais 2003). Les TEP doivent donc être considérées comme une part importante du carbone qui transite, pour l'essentiel, des producteurs primaires vers les décomposeurs et vers le sédiment. Actuellement, il n'existe aucune étude ayant évalué les teneurs en carbone des TEP issues du phytoplancton lacustre. En milieu marin, Engel et Passow (2001) ont estimé à partir de cultures de diatomées (*Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros neogracilis* et *Coscinodiscus wailesii*), qu'une concentration en TEP de 1 µg en équivalent xanthan renfermait 0,75 µg de carbone. En utilisant ce facteur de conversion, nous avons estimé que les TEP représentent en moyenne $622,1 \pm 366,9 \mu\text{g C.L}^{-1}$ à 1m de profondeur au lac Pavin pour des valeurs extrêmes allant de 109,1 à $1766,9 \mu\text{gC.L}^{-1}$. Cela représente 4,8 fois la biomasse phytoplanctonique et 61,2% (15,2 – 86,8%) du carbone organique totale à 1m de profondeur (Fig. 31a). En considérant que les TEP issues de cyanobactéries renferment les mêmes quantités de carbone que celles provenant des diatomées, ces particules représentent alors $1121,2 \pm 807,1 \mu\text{g C.L}^{-1}$ dans le réservoir de Grangent correspondant à 57,9% du carbone organique totale à 0,5m de profondeur (Fig. 31b). Au lac Pavin, la distribution verticale des particules aux printemps 2005 et 2006, mais également au printemps 2007 (données non présentées dans ce mémoire) indique toujours une nette diminution des concentrations des TEP avec la profondeur. Ces concentrations dans la zone aphotique (30m) et dans la zone de transition entre zone oxygénée et anoxique (58m) représentent respectivement seulement 46,8 et 25,4% des concentrations enregistrées en zone euphotique (1, 5, 15 et 20m). En considérant que les TEP de la zone aphotique ont uniquement une origine phytoplanctonique, on peut alors estimer que la

moitié (53,2%) des TEP est recyclée en zone éclairée (Fig. 32). D'après Kepkay (2000), une grande partie du carbone issu des TEP serait recyclée dans la couche supérieure des océans, les concentrations en particules étant cinq fois plus faibles en zone profonde qu'en surface. Le taux de perte des TEP marines par la dégradation des bactéries et des autres microorganismes augmente avec la profondeur (Passow *et al.* 2001). Si les TEP augmentent la formation d'agrégats de diatomées à la fin du printemps, il semblerait qu'elles réduisent la vitesse de sédimentation de ces agrégats par diminution de la densité totale du matériel sédimentant (Engel et Shartau 1999), permettant ainsi une plus forte dégradation. Au lac Pavin, Lemarchand *et al.* (2006) ont indiqué que les activités enzymatiques des bactéries attachées diminuent avec la profondeur et augmentent avec l'abondance des TEP. Nos estimations doivent être complétées par des analyses précises des teneurs en carbone des particules lacustres et par des mesures du taux de sédimentation à différentes profondeurs, notamment dans la zone aphotique oxygénée du lac Pavin. Elles soulignent néanmoins le rôle prépondérant des Particules d'Exopolymères Transparentes en milieu pélagique lacustre et modifient notre vision initiale des dynamiques des communautés planctoniques qui ne peuvent plus être appréhendées sans tenir compte du matériel détritique particulaire. Les études en milieu lacustre restent très parcellaires et n'autorisent pas, pour l'instant, de tirer des conclusions générales sur le rôle des TEP en fonction du niveau trophique des milieux et de la structure du réseau trophique. Pour une meilleure compréhension de la contribution des TEP au cycle de carbone, il s'avérerait nécessaire de connaître leur composition chimique, notamment leur rapport C/N, tout en suivant leur sédimentation dans la colonne d'eau et leur devenir dans les sédiments. Des approches *in vitro* permettraient de mesurer et de comparer la production et la teneur en carbone de TEP produites par différentes espèces phytoplanctoniques mais également par le bactérioplancton lacustre.

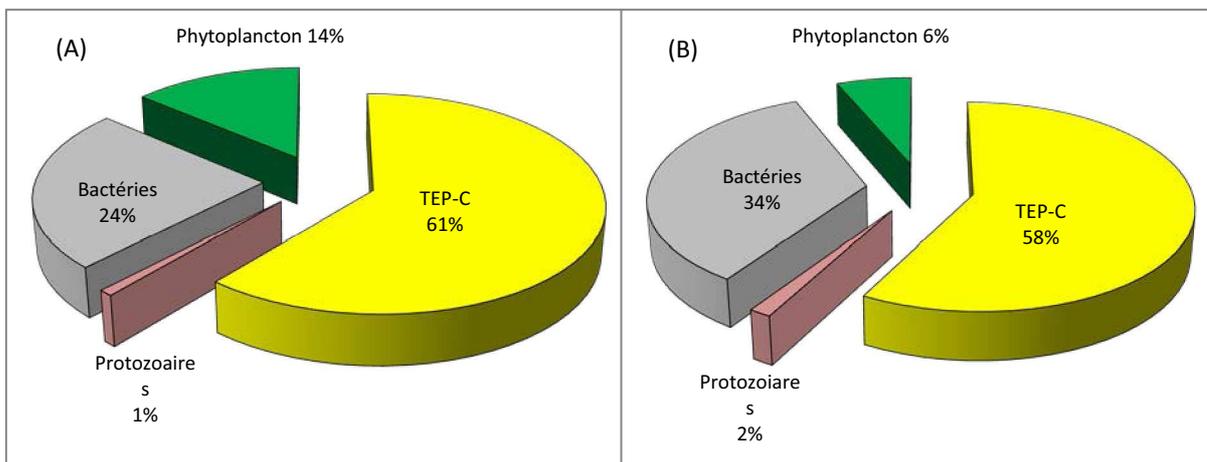


Figure 31. Contribution des TEP au carbone organique particulaire totale au lac Pavin à 1m de profondeur (A) et au réservoir de Grangent à 0,5m de profondeur (B).

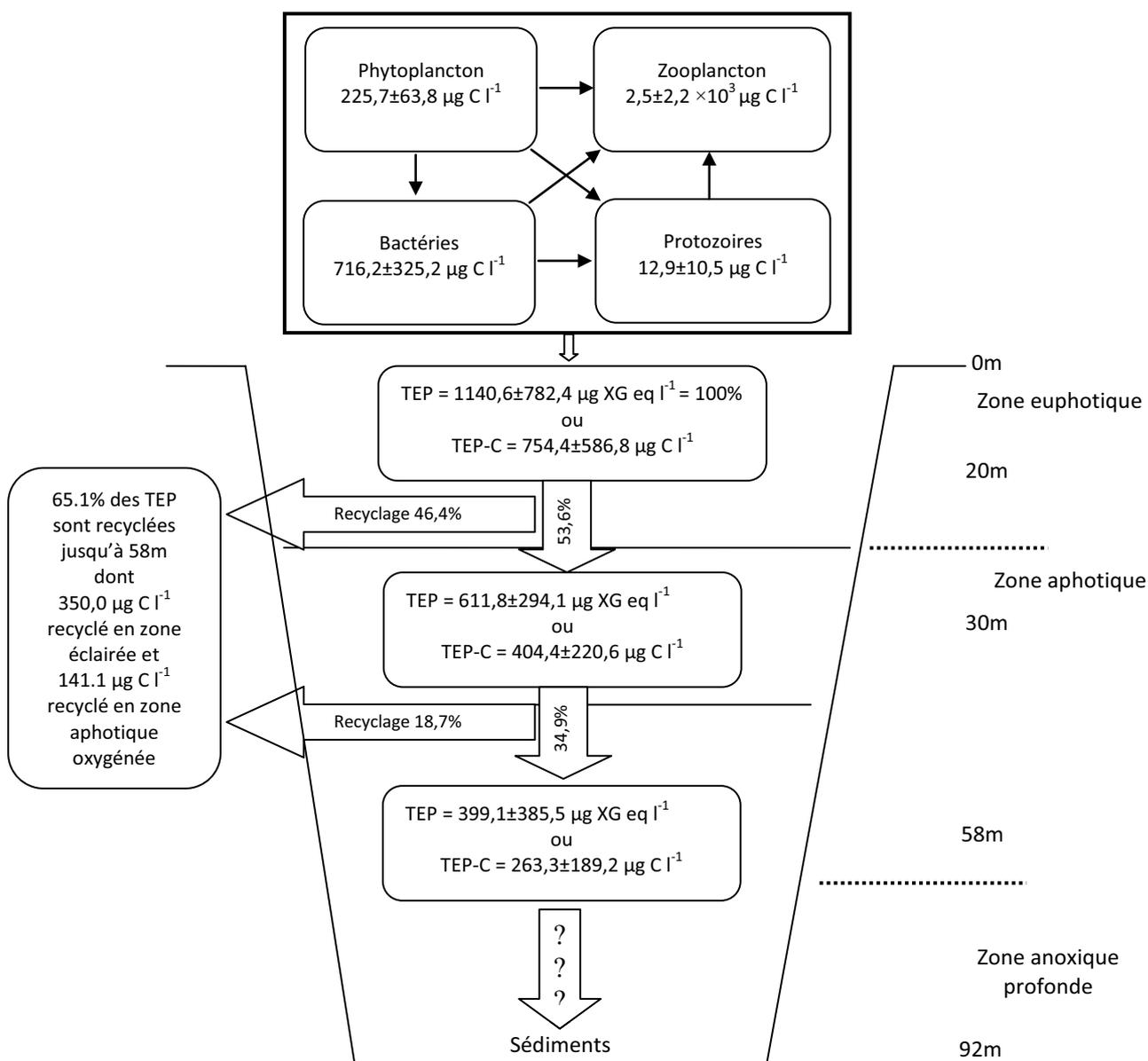


Figure 32. Schéma conceptuel du devenir des TEP en fonction de la profondeur au lac Pavin pendant la période printanière.

Références bibliographiques

Références

- Adiwilaga, E. M.** 1983. Contribution à l'étude des successions écologiques: Evolution structurale et métabolique d'un phytoplancton lacustre (lac Pavin, France). Thèse de doctorat de 3ème cycle de l'Université de Clermont-Ferrand, 208 p.
- Adrian, R., Wickham, S. A., et Butler, N. M.** 2001. Trophic interactions between zooplankton and the microbial community in contrasting food webs: the epilimnion and deep chlorophyll maximum of a mesotrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology*. **24**: 83–97.
- Allredge, A.L.** 1992. Marine snow in ocean cycling. In: Nierenberg WA (ed) *Encyclopedia of earth system science*, Vol 3. Academic Press, San Diego, p 139–147.
- Allredge, A.L. et Silver, M.L.** 1988. Characteristics, dynamics and significance of marine snow. *Progress in Oceanography*. **20**: 41–82.
- Allredge, A.L. et Gotschalk, C.** 1989. Direct observation of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities, and formation of diatom aggregates. *Deep-Sea Research*. **36**: 159–171.
- Allredge, A.L. et Gotschalk, C.** 1990. The relative contribution of marine snow of different origin to biological processes in coastal waters. *Continental Shelf Research*. **10**: 41–58.
- Allredge, A. L. et McGillivray, P.** 1991. The attachment probabilities of marine snow and their implications for particle coagulation in the ocean. *Deep-Sea Research*. **38**: 431–443.
- Allredge, A. L., Passow, U. et Logan, B. E.** 1993. The abundance and significance of a class of large transparent organic particles in the ocean. *Deep-Sea Research*. **40**: 1131–1140.
- Allredge, A.L., Passow, U. et Haddock, H.D.** 1998. The characteristics and transparent exopolymer particle (TEP) content of marine snow formed from thecate dinoflagellates. *Journal of Plankton Research*. **20**: 393–406.
- Amblaed, C.** 1986. Les nucléotides adéniliques: Intérêts pour l'étude de la biomasse, de l'activité métabolique et de la structure des peuplements phytoplanctoniques. Thèse de Doctorat d'Etat de l'Université de Clermont-Ferrand, 317 p.
- Amblard, C., Rachiq, S. et Bourdier, G.** 1992. Photolithotrophy, photoheterotrophy and chemoheterotrophy during spring phytoplankton development (Lake Pavin). *Microbial Ecology*. **24**: 109-123.
- Arnous, M.B., Courcol, N. et Carrias, J. F.** 2010. The significance of transparent exopolymeric particles in the vertical distribution of bacteria and heterotrophic nanoflagellates in Lake Pavin. *Aquatic Sciences*. **72**: 245–253.
- Arruda Fatibello, S.H.S., Henriques Vieira, A.A. et Fatibello-Filho, O.** 2004. A rapid spectrophotometric method for the determination of transparent exopolymer particles (TEP) in freshwater. *Talanta*. **62**: 81–85.
- Azam, F. et Cho, B.C.** 1987. Bacterial utilization of organic matter in the sea. In: Brock T (ed) *Ecology of microbial communities*. Cambridge University Press, Cambridge, p 261–281.
- Azam, F. et Long, R. A.** 2001. Sea snow microcosms. *Nature*, London, **414**: 495–497.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, G. J., Gray, J. S., Meyer-Reil, L. A. et Thingstad, F.** 1983. The ecological role of water column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*. **10**: 257–263.
- Azam, F., Smith, D.C., Steward, G.F. et Hagström, A.** 1994. Bacteria-organic matter coupling and its significance for oceanic carbon cycling. *Microbial Ecology*. **28**: 167-179.
- Bar-Zeev, E., Berman-Frank, I., Stambler, N., Domínguez, E. V., Zohary, T., Capuzzo, E., Meeder, E., Suggett, D. J., Iluz, D., Dishon, G. et Berman, T.** 2009. Transparent exopolymer particles

- (TEP) link phytoplankton and bacterial production in the Gulf of Aqaba. *Aquatic Microbial Ecology*. **56**: 217–225.
- Beauvais, S.** 2003. Étude des Particules Exopolymériques Transparentes (TEP) en milieu marin. Dynamique et rôle dans le cycle du carbone. Thèse de Doctorat d'Etat de l'Université de Paris VI. p 217.
- Beauvais, S., Pedrotti, M.L., Villa, E. et Lemée, R.** 2003. Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in relation to trophic and hydrological conditions in the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*. **262**: 97–109.
- Beauvais, S., Pedrotti, M.L., Egge, J., Iversen, K. et Marrasé, C.** 2006. Effects of turbulence on TEP dynamics under contrasting nutrient conditions: implications for aggregation and sedimentation processes. *Marine Ecology Progress Series*. **323**: 47–57.
- Becquevort, S. et Smith, W.O.** 2001. Aggregation, sedimentation and biodegradability of phytoplankton-derived material during spring in the Ross Sea, Antarctica. *Deep-Sea Research*. **48**: 4155–4178.
- Bell, T., Neill, W.E. et Schluter, D.** 2003. The effect of temporal scale on the outcome of trophic cascade experiments. *Oecologia*. **134**: 578–586.
- Benner, R., Pakulski, J. D., McCarthy, M., Hedges, J. et Hatcher, P.** 1992. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*. **255** : 1561–1564.
- Berger, B., Hoch, B., Kavka, G. et Herndl, G.J.** 1996. Bacterial colonization of suspended particles in the River Danube. *Aquatic Microbial Ecology*. **10**: 37–44.
- Berman, T.** 2010. TEP-a major challenge for water filtration. *Filtration and Separation*. **47**: 20-22.
- Berman, T. et Viner-Mozzini, Y.** 2001. Abundance and characteristics of polysaccharide and proteinaceous particles in Lake Kinneret. *Aquatic Microbial Ecology*. **24**: 255–264.
- Berman, T. et Holenberg, M.** 2005. Don't fall foul of biofilm through high TEP levels. *Filtration and Separation*. **42**: 30–32.
- Berthon, J.L., Devaux, J., Aleya, L., Giraudet, H. et Restituto, F.** 1996. Déterminisme de l'eutrophisation de la retenue de Grangent (Loire) : étude des nutriments, de la dynamique des populations phytoplanctoniques et des relations phyto-zooplanctoniques en 1990–1991. *Hydroécologie Appliquée*. **8**: 99–125.
- Bertolo, A., Lacroix, G., Lescher-Moutoué, F. et Sala, S.** 1999. Effects of physical refuges on fish-plankton interactions. *Freshwater Biology*. **41** : 795-808.
- Bertolo, A., Lacroix, G., Lescher-Moutoué, F. et Cardinal-Legrand, C.** 2000. Plankton dynamics in planktivore- and piscivore-dominated mesocosms. *Archiv für Hydrobiologie*. **147**:327-349.
- Biddanda, B. A. et Pomeroy, L.R.** 1988. Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. Microbial succession. *Marine Ecology Progress Series*. **42**:79–89.
- Bird, D. F. et Kalff, J.** 1984. Empirical Relationships between Bacterial Abundance and Chlorophyll Concentration in Fresh and Marine Waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **41**: 1015–1023.
- Blackburn, N., Azam, F. et Hagström, A.** 1997. Spatially explicit simulations of a microbial food web. *Limnology and Oceanography*. **42**: 613–622.
- Bloem, J., Bär-Gilissen, M.J.B. et Cappenberg, T.E.** 1986. Fixation, Counting, and Manipulation of Heterotrophic Nanoflagellates. *Applied and Environmental Microbiology*. **52**: 1266-1272.
- Bloesch, J. et Burns, N. M.** 1980. A critical review of sedimentation trap technique. *Aquatic Sciences*. **42**: 15-55.
- Bloesch, J. et Bürgi, H.R.** 1989. Changes in phytoplankton and zooplankton biomass and composition reflected by sedimentation. *Limnology and Oceanography*. **34**: 1048–1061.

- Borsheim, K. Y. et Bratbak, G.** 1987. Cell volume to cell carbon conversion factors for a bacterivorous *Monas* sp. Enriched from seawater. *Marine Ecology Progress Series*. **36**: 171-175.
- Bottrell, H.H., Duncan, A., Gliwicz, Z.M., Grygierek, E., Herzig, A., Hillbricht-Ilkowska, A., Kurasawa, H., Larsson, P. et Weglenska, T.** 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. *Norwegian Journal of Zoology*. **24**: 419-456.
- Bourrelly, P.** 1981. Les Algues d'Eau Douce. Tome II. Les Algues Jaunes et Brunnes, Chromophycees, Chrysophycees, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. N. Boubée et Cie, Paris. 517 p.
- Bourrelly, P.** 1985. Les Algues d'Eau Douce. Tome III. Les Algues Bleues et Rouges, Les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines. Second Edition. N. Boubée et Cie, Paris.
- Bourrelly, P.** 1990. Les Algues d'Eau Douce. Tome I. Les Algues Vertes. Second Edition. N. Boubée et Cie, Paris. 576 p.
- Brabrand, A., Faafeng, A. et Nilssen, P. M.** 1986. Juvenile predators and invertebrate predators; delaying the recovery phase of eutrophic lakes by suppression of efficient filterfeeders. *Journal of Fish Biology*. **29**: 99-106.
- Brabrand, A., Faafeng, B.A. et Nilsen, J.P.M.** 1990. Relative importance of phosphorus supply to phytoplankton production: Fish excretion versus external loading. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **47**: 364- 372.
- Brachvogel, T., Schweitzer, B. et Simon, M.** 2001. Dynamics and bacterial colonization of microaggregates in a large mesotrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology*. **26**: 23–35.
- Brett, M.T. et Goldman, C.R.** 1996. A meta-analysis of the fresh- water trophic cascade. *Proceeding of the National Academic of Sciences*. **93**: 7723–7726.
- Brock, T. D.** 1978. Use of fluorescence microscopy for quantifying phytoplankton, especially filamentous blue green algae. *Limnology and Oceanography*. **23**: 158-160.
- Brousse, R. et Delibrias, G.** 1969. Une éruption vieille de 6660 ans en Auvergne. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Paris*. **268**: 1175-1177.
- Bürgi, H. R., Bühner, H., Bloesch, J. et Szabo, E.** 1979. Der Einfluss experimentell variiertes Zooplanktondichte auf die Produktion und Sedimentation im hocheutrophen See. *Schweiz. Z. Hydrology*. **41**: 38–63.
- Burns, C. W. et Rigler, F. H.** 1967. Comparison of filtering rates of *Daphnia rosea* in lake water and in suspensions of yeast. *Limnology and Oceanography*. **12**: 492-502.
- Caron, D. A.** 1983. A technique for the enumeration of photosynthetic and heterotrophic nanoplankton using epifluorescence microscopy, and a comparison with other procedures. *Applied and Environmental Microbiology*. **46**: 491-498.
- Caron, D.A., Davis, P.G., Madin, L.P. et Sieburth, J.M.cN.** 1982. Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoans in oceanic macroaggregates. *Science*. **218**: 795–797.
- Caron, D.A., Davis, P.G., Madin, L.P. et Sieburth, J.M.cN.** 1986. Enrichment of microbial populations in macroaggregates (marine snow) from surface waters of the North Atlantic. *Journal of Marine Research*. **44**: 643–565.
- Carpenter, S.R. et Kitchell, J.F.** 1993. *The Trophic Cascade in Lakes*. Cambridge University Press, Cambridge. 385p.
- Carrias, J.F.** 2004. Les réseaux trophiques microbiens en milieu aquatique- Diversité, dynamiques et rôle des Protistes Flagellées et Ciliés. Habilitation à diriger des recherches de l'Université de Clermont-Ferrand, 68 p.
- Carrias, J.F. et Sime-Ngando, T.** 2009. Bacteria attached to Surfaces. In : Gene E. Likens, (Editor) *Encyclopedia of inland waters*. Volume 3, pp. 182-192 Oxford : Elsevier.

- Carrias, J.F., Amblard, C. et Bourdier, G.** 1996. Protistan bacterivory in an oligomesotrophic lake : importance of attached ciliates and flagellates. *Microbial Ecology*. **31**: 249-268.
- Carrias, J.F., Serre, J. P., Sime-Ngando, T. et Amblard, C.** 2002. Distribution, size, and bacterial colonization of pico and nano-detrital organic particles (DOP) in two lakes of different trophic status. *Limnology and Oceanography*. **47**: 1202-1209.
- Claquin, P., Probert, I., Lefebvre S. et Veron, B.** 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquatic Microbial Ecology*. **51**: 1-11.
- Cole, J.J., Findlay, S. et Pace, M.L.** 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series*. **43**: 1-10.
- Costerton, J. W.** 1995. Overview of microbial biofilms. *Journal of Industrial Microbiology*. **15** : 137–140.
- Craig, J. F.** 1978. A study of the food and feeding of perch, *Perca fluviatilis* L., in Windermere. *Freshwater Biology*. **8**: 59–68.
- Cuevas, L.A., Daneri, G., Jacob, B. et Montero, P.** 2004. Microbial abundance and activity in the seasonal upwelling area off Concepción (36°S), central Chile: a comparison of upwelling and non-upwelling conditions. *Deep-Sea Research*. **51**: 2427–2440.
- Dam, H. G. et Drapeau, D. T.** 1995. Coagulation efficiency, organic-matter glues, and the dynamics of particles during a phytoplankton bloom in a mesocosm study. *Deep-Sea Research*. **42**: 111–123.
- De Vicente, I., Ortega-Retuerta, E., Romera, O., Morales-Baquero, R. et Reche, I.** 2009. Contribution of transparent exopolymer particles to carbon sinking flux in an oligotrophic reservoir. *Biogeochemistry*. **96** : 13–23.
- Devaux, J.** 1977. Dynamique des populations phytoplanctoniques dans deux lacs du Massif Central français. Thèse de Doctorat de l'Université de Clermont, 185 p.
- Dilling, L. et Alldredge, A. L.** 2000. Fragmentation of marine snow by swimming macrozooplankton: A new process impacting carbon cycling in the sea. *Deep-Sea Research*. **47**: 1227–1245.
- Dragesco, J. et Dragesco-Kerneis, A.** 1986. Ciliés libres de l'Afrique intertropicale. Introduction à la connaissance et à l'étude des ciliés. ORSTOM, Paris. 559p.
- Drenner, R.W., Strickler, J.R. et O'Brien, W.J.** 1978. Capture probability: the role of zooplankton escape in the selective feeding of planktivorous fish. *Journal Fisheries Researches Board of Canada*. **35**: 1370-1373.
- Duhamel, S. et Jacquet, S.** 2006. Flow cytometric analysis of bacteria- and virus-like particles in lake sediments. *Journal of Microbiological Methods*. **64**: 316– 332.
- Dumont, H. J., Van de Velde, I. et Dumont, S.** 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia*. **19**: 75-97.
- Emery, K. O., Johns, I. A. et Honjo, S.** 1984. Organic films on particulate matter in surface waters off Eastern Asia. *Sedimentology*. **31**: 503–514.
- Engel, A.** 2000. The role of transparent exopolymer particles (TEP) in the increase in apparent particle stickiness (α) during the decline of a diatom bloom. *Journal of Plankton Research*. **22**: 485–497.
- Engel, A.** 2002. Direct relationship between CO₂ uptake and transparent exopolymer particles production in natural phytoplankton. *Journal of Plankton Research*. **24**: 49–54.

- Engel, A.** 2004. Distribution of transparent exopolymer particles (TEP) in the northeast Atlantic Ocean and their potential significance for aggregation processes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. **51**: 83–92.
- Engel, A. et Schartau, M.** 1999. Influence of transparent exopolymer particles (TEP) on sinking velocity of *Nitzschia closterium* aggregates. *Marine Ecology Progress Series*. **182**: 69–76.
- Engel, A. et Passow, U.** 2001. Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Marine Ecology Progress Series*. **219**: 1–10.
- Engel, A., Thomas, S., Riebesell, U., Rochelle-Newall, E. et Zondervan, I.** 2004. Polysaccharide aggregation as a potential sink of marine dissolved organic carbon. *Nature*. **428**: 929–932.
- Farrington, J.** 1992. Overview and key recommendations. Marine organic geochemistry workshop. *Marine Chemistry*. **39**: 5-9.
- Foissner, W.** 1994. Progress in taxonomy of planktonic freshwater ciliates. *Marine Microbiology Food Webs*. **8**: 9-35.
- Foissner, W.** 1999. Protist diversity : estimates of the near imponderable. *Protistology*. **150**: 363-368.
- Foissner, W. et Berger, H.** 1996. A user-friendly guide to the ciliates(Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater biology*. **35**: 375-482.
- Fowler, S.W. et Knauer, G.A.** 1986. Role of large particles in the transport of elements and organic compounds through the oceanic water column. *Progress in Oceanography*. **16**:147–194.
- Fukao, T., Kimoto, K., Yamatogi, T., Yamamoto, K., Yoshida, Y. et Kotani, Y.** 2009. Marine mucilage in Ariake Sound, Japan, is composed of transparent exopolymer particles produced by the diatom *Coscinodiscus granii*. *Fish Sciences*. **75**:1007–1014.
- Gifford, D.J. et Caron,D.A.** 2000. Sampling, preservation, enumeration and biomass of marine protozooplankton. In: Harris, R. P et al. (eds) ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic press. London. P 193-221.
- Gorden, D. C.** 1970. A microscopic study of organic particles in the North Atlantic Ocean. *Deep Sea Research*. **17**: 175–185.
- Grossart, H.P.** 1999. Interactions between marine bacteria and axenic diatoms (*Cylindrotheca fusiformis*, *Nitzschia laevis* and *Thalassiosira weissflogii*) incubated under various conditions in the lab. *Aquatic Microbial Ecology*. **19**: 1–11.
- Grossart, H.P. et Simon, M.** 1993. Limnetic macroscopic organic aggregates (lake snow): abundance, characteristics, and bacterial dynamics in Lake Constance. *Limnology and Oceanography*. **38**:532–546.
- Grossart, H. P. et Simon, M.** 1997. Formation of macroscopic organic aggregates (lake snow) in a large lake: The significance of transparent exopolymer particles, phytoplankton, and zooplankton. *Limnology and Oceanography*. **42**: 1651–1659.
- Grossart, H.P. et Simon, M.** 1998. Significance of limnetic organic aggregates (lake snow) for the sinking flux of particulate organic matter in a large lake. *Aquatic Microbial Ecology*. **15**:115–125.
- Grossart, H.P. et Ploug, H.** 2000. Bacterial production and growth efficiencies: direct measurements on riverine aggregates. *Limnology and Oceanography*. **45**: 436–445.
- Grossart, H.P. et Ploug, H.** 20001. Microbial degradation of organic carbon and nitrogen on diatom aggregates. *Limnology and Oceanography*. **46**: 267–277

- Grossart, H. P., Simon, M. et Logan, B. E. 1997. Formation of macroscopic organic aggregates (lake snow) in a large lake: the significance of transparent exopolymer particles (TEP), phyto- and zooplankton. *Limnology and Oceanography*. **42**: 1651–1659.
- Grossart, H. -P., Berman, T., Simon, M. et Pohlmann, K. 1998. Occurrence and microbial dynamics of macroscopic organic aggregates (lake snow) in Lake Kinneret, Israel, in fall. *Aquatic Microbial Ecology*. **14**: 59–67.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., et Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4(1): 9pp
- Hansen, J. L. S. et Kiørboe, T. 1997. Quantifying interspecific coagulation efficiency of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*. **159**: 75–79.
- Henning, M., Hertel, H., Wall, H. et Kohl, J. 1991. Strain- specific influence of *Microcystis aeruginosa* on food ingestion and assimilation of some cladocerans and copepods. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. **76**: 37-45.
- Herndl, G.J. 1992. Marine snow in the northern Adriatic Sea: possible causes and consequences for a shallow ecosystem. *Marine Microbial Food Webs*. **6**:149–172.
- Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U. et Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*. **35**: 403–424.
- Hoagland, K., Rosowski, J., Gretz, M. et Roemaer, S. 1993. Diatom extracellular polymeric substances: Function, fine structure, chemistry, and physiology. *Journal of Phycology*. **29**: 537–566.
- Hong, Y., Smith, W.O. et White, A.M. 1997. Studies on transparent exopolymer particles (TEP) produced in the Ross Sea (Antarctica) and by *Phaeocystis antarctica* (Prymnesiophyceae). *Journal of Phycology*. **33**: 368–376.
- Horobin, R.W. 1988. *Understanding Histochemistry: Selection, Evaluation, and Design of Biological Stains*, Halsted Press, Chichester, UK.
- Horppila, J. et Kairesalo, T. 1992. Impacts of bleak (*Alburnus alburnus*) and roach (*Rutilus rutilus*) on water quality, sedimentation and internal nutrient loading. *Hydrobiologia*. **243-244**: 323-331.
- Horppila, J., Peltonen, H., Malinen, T., Luokkanen, E. et Kairesalo, T. 1998. Top-down or Bottom-up Effects by Fish: Issues of Concern in Biomanipulation of Lakes. *Restoration Ecology*. **6**: 20-28.
- Humbert, J.F., Duris-Latour, D., Le Berre, B., Giraudet, H. et Salençon, M.J. 2005. Genetic diversity in *Microcystis* populations of a French storage reservoir assessed by sequencing of the 16S–23S rRNA Intergenic Spacer. *Microbial Ecology*. **49**: 308–314.
- Jeppesen, E., Peder Jensen, J., Søndergaard, M., Lauridsen, T., Pedersen L.J. et Jensen, L. 1997. Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. *Hydrobiologia*. **342**: 151–164.
- Kaltenböck, E. et Herndl, G.J. 1992. Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the northern Adriatic Sea. IV. Dissolved nutrients and the autotrophic community associated with marine snow. *Marine Ecology Progress Series*. **87**: 147–159.
- Karen, G., Porter, Feig, Y. S. et Vetter, E.F. 1983. Morphology, flow regimes, and filtering rates of *Daphnia*, *Ceriodaphni* and *Bosmina* fed natural bacteria. *Oecologia*. **58**: 156-163.
- Kennedy, M.D., Munoz-Tobar, F.P., Amy, G.L. et Schippers, J.C. 2009. Transparent exopolymer particle (TEP) fouling of ultrafiltration membrane systems. *Desalination and Water Treatment*. **6**: 169–176.
- Kepkay, P. 2000. Colloids and the ocean carbon cycle. In P. Wangersky (Ed.), (pp. 35–56). *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 5. Berlin: Springer Verlag.

- Kepkay, P. E., Niven, S. E. H. et Milligan, T. G.** 1993. Low molecular weight and colloidal DOC production during a phytoplankton bloom. *Marine Ecology Progress Series*. **100**: 233–244.
- Kerner, M. et Krogmann, D.** 1994. Partitioning of trace metals in suspended matter from the Elbe estuary fractionated by a sedimentation method. *Netherlands Journal of Sea Research*. **33**: 19–27.
- Kjørboe, T.** 2001. Formation and fate of marine snow: small scale processes with large-scale implications. *Scientia Marina*. **65**: 57–71.
- Kjørboe, T. et Hansen, J. L. S.** 1993. Phytoplankton aggregate formation: Observations of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material. *Journal of Plankton Research*. **15**: 993–1018.
- Kjørboe, T., Lundsgaard, C., Olesen, M. et Hansen, J.L.S.** 1994. Aggregation and sedimentation processes during a spring phytoplankton bloom: a field experiment to test coagulation theory. *Journal of Marine Research*. **52**: 297–323.
- Kjørboe, T., Tiselius, P., Mitchell-Innes, B., Hansen, J.L.S., Visser, A.W. et Mari, X.** 1998. Intensive aggregate formation with low vertical flux during an upwelling-induced diatom bloom. *Limnology and Oceanography*. **43**: 104–116.
- Kjørboe, T., Ploug, H. et Thygesen, U.H.** 2001. Fluid motion and solute distribution around sinking aggregates. I. Small scale fluxes and heterogeneity of nutrients in the pelagic environment. *Marine Ecology Progress Series*. **211**: 1–13
- Kirchman, D. L., Yu, L. et Cottrell, M. T.** 2003. Diversity and abundance of uncultured Cytophaga-like bacteria in the Delaware Estuary. *Applied Environmental Microbiology*. **69**: 6587–6596.
- Kloareg, B. et Quatrano, R. S.** 1988. Structure of cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. **26**: 259–315.
- Koike, I., Hara, S., Terauchi, K. et Kogure, K.** 1990. Role of submicron particles in the ocean. *Nature*, London. **345**: 242–243.
- Komarek, J. et Anagnostidis, K.** 1999. Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1. Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales. Gustav Fischer éd., Heidelberg. Berlin, 548 p.
- Komarek, J. et Anagnostidis, K.** 2005. Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2. Cyanoprokaryota .Teil: Oscillatoriales. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag éd., Elsevier, München, 759 p
- Kozlowski, W. et Vernet, M.** 1995. Palmer LTER: Predominance of cryptomonads and diatoms in antarctic coastal waters. *Antarctic Journal of the United States*. **30** : 267–268.
- Krembs, C. et Engel, A.** 2001. Abundance and variability of microorganisms and transparent exopolymer particles across the ice water interface of melting first-year sea ice in the Laptev Sea (Arctic). *Marine Biology*. **138** : 173–185.
- Lacroix, G., Lescher-Moutoué, F. et Pourrio, R.** 1996. Trophic interactions, nutrient supply, and structure of freshwater pelagic food webs. In: *Aspects in the Genesis and Maintenance of Biological Diversity*. Oxford University Press, 162-179.
- Lair, N.** 1975. Rôle du zooplancton dans les réseaux trophiques de deux lacs du Massif Central français. Thèse de Doctorat de l'Université de clermont, 166 p.
- Lampitt, R.S., Hillier, W.R. et Challenor, P.G.** 1993. Seasonal and diel variation in the open ocean concentration of marine snow aggregates. *Nature*. **362**: 737–739.
- Latour, D.** 2002. Vie planctonique et vie benthique de la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa* sur la retenue de Grangent (Loire), thèse de Doctorat de l'Université de Jean-Monnet, Saint-Étienne, 162p.

- Latour, D. et Giraudet, H.** 2004. Factors influencing the spatiotemporal distribution of benthic *Microcystis aeruginosa* colonies (Cyanobacteria) in the hypertrophic Grangent Reservoir (Loire, France). *Comptes Rendus Biologie*. **27**: 753–61.
- Latour-Duris, D., Giraudet, H. et Berthon, J.-L.** 2002. Effet d'une expérimentation de brassage artificiel epilimnique par aération sur les poussées cyanobactériennes dans la retenue hypereutrophe de Grangent (France). *Journal of Water Science*. **15**: 289-299.
- Latour, D., Giraudet, H. et Salençon, M.J.** 2004a. Méthode d'échantillonnage adaptée aux Cyanobactéries coloniales en milieu lacustre. Cas appliqué à *Microcystis aeruginosa* sur la retenue de Grangent (Loire, France). *Comptes Rendus Biologie*. **327**: 105–113.
- Latour, D., Sabido, O., Salençon, M. J. et Giraudet, H.** 2004b. Dynamics and metabolic activity of the benthic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the Grangent reservoir (France). *Journal of Plankton research*. **26**: 1–8.
- Latour, D., Salençon, M.J., Reyss., J.L. et Giraudet, H.** 2007. Sedimentary imprint of *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) blooms in Grangent reservoir (Loire, France). *Journal of Phycology*. **43** : 417–425.
- Lazzaro, X., Drenner, R.W., Stein, R.A. et Smith, J.D.** 1992. Planktivores and plankton dynamics: effects of fish biomass and planktivore type. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **49**: 1466–1473.
- Laybourn-Parry, J.** 1992. Protozoan plankton ecology. Chapman and Hall, London, pp 1-231.
- Legendre, L. et Watt, W.D.** 1971-1972. On a rapid technique for plankton enumeration. *Annales de l'Institut Oceanographique*. **58**: 173-177.
- Lemarchand, C., Jardiller, L., Carrias, J. F., Richardot, M., Debroas, D., Sime-Ngando, T. et Amblard, C.** 2006. Community composition and activity of prokaryotes associated to detrital particles in two contrasting lake ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*. **57**: 442-451.
- Long, R.A. et Azam, F.** 1996. Abundant protein-containing particles in the sea. *Aquatic Microbial Ecology*. **10**: 213–221.
- Logan, B. E., Grossart, H. P. et Simon, M.** 1994. Direct observation of phytoplankton, TEP, and aggregates on polycarbonate filters using bright field microscopy. *Journal of Plankton Research*. **16**: 1811–1815.
- Logan, B. E., Passow, U., Alldredge, A. L., Grossart, H. P. et Simon, M.** 1995. Mass sedimentation of diatom blooms as large aggregates is driven by coagulation of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research*. **42**:203–214.
- Lnnd, J. W. G., Kipling, C. et Le Crenne, D.** 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiology*. **11**: 143-170.
- Malej, A. et Harris, R.P.** 1993. Inhibition of copepod grazing by diatom exudates: a factor in the development of mucus aggregates? *Marine Ecology Progress Series*. **96**:33–42.
- Marchessault, P. et Mazumder, A.** 1997. Grazer and Nutrient Impacts on Epilimnetic Ciliate Communities. *Limnology and Oceanography*. **42**: 893-900.
- Mari, X.** 1999. Carbon content and C:N ratio of transparent exopolymeric particles (TEP) produced by bubbling exudates of diatoms. *Marine Ecology Progress Series*. **183**: 59–71.
- Mari, X. et Kjørboe, T.** 1996. Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the Kattegat. *Journal of Plankton Research*. **18**: 969–986.
- Mari, X. et Burd, A.** 1998. Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Marine Ecology Progress Series*. **163**: 63–76.

- Mari, X., Rassoulzadegan, F., Brussaard, C.P.D. et Wassmann, P.** 2005. Dynamics of transparent exopolymeric particles (TEP) production by *Phaeocystis globosa* under N- or P-limitation: a controlling factor of the retention/export balance. *Harmful Algae*. **4**: 895–914.
- Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S. et Vaultot, D.** 1997. Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid dye SYBRGreen I. *Applied Environmental Microbiology*. **63**: 186–193.
- Marie, D., Brussaard, C., Partensky, F. et Vaultot, D.** 1999. Flow cytometric analysis of phytoplankton, bacteria and viruses. *Current Protocols in Cytometry*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 11.11.1–11.11.15.
- McCave, I. N.** 1984. Size spectra and aggregation of suspended particles in the deep ocean. *Deep-Sea Research I*. **31**: 329–352.
- McQueen, D.J., Post, J.R. et Mills, E.L.** 1986. Trophic relationships in freshwater pelagic ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **43**: 1571-1581.
- McQueen, D.J., Johannes, M. R. S., Post, J.R., Stewart, T.J. et Lean, D. R. S.** 1989. Bottom-Up and Top-Down Impacts on Freshwater Pelagic Community Structure. *Ecological Monographs*. **59**: 289-309.
- Mopper, K., Zhou, J., Ramana, K. S., Passow, U., Dam, H. G. et Drapeau, D. T.** 1995. The role of surface-active carbohydrates in the flocculation of a diatom bloom in a mesocosm. *Deep-Sea Research*. **42**: 47–73.
- Mostajir, B., Dolan, J.R. et Rassoulzadegan, F.** 1995a. Seasonal variations of pico- and nano-detrital particles (DAPI yellow particles, DYP) in the Ligurian Sea (NW Mediterranean). *Aquatic Microbial Ecology*. **9**:267–277.
- Mostajir, B., Dolan, J.R. et Rassoulzadegan, F.** 1995b. A simple method for the quantification of a class of labile marine picoand nano-sized detritus: DAPI Yellow Particles (DYP). *Aquatic Microbial Ecology*. **9**: 259–266.
- Muylaert, k., Van der Gucht, K., Vloemans, N., De Meester, L., Gillis, M. et Vyverman, W.** 2002. Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus topdown variables in four eutrophic shallow lakes. *Applied Environmental Microbiology*. **68**: 4740–4750.
- Mykkestad, S. M.** 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Science of the total Environment*. **165**: 155–164.
- Nagata, T.** 2000. Production mechanisms of dissolved organic matter. In D. L. Kirchmann (Ed.), *Microbial Ecology of the Oceans* (pp. 121–151). New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Neill, W.E.** 1988. Community responses to experimental nutrient perturbations in oligotrophic lakes: the importance of bottlenecks in size-structured populations. In: Ebenman B, Persson L (eds) *Size-structured populations: ecology and evolution*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 236-255.
- Neu, T.R.** 2000. In situ cell and glycoconjugate distribution in river snow studied by confocal laser scanning microscopy. *Aquatic Microbial Ecology*. **21**:85–95.
- Newton, P. P., Lampitt, R. S., Jickells, T. D., King, P. et Boutle, C.** 1994. Temporal and spatial variability of biogenic particle fluxes during JGOFS northeast Atlantic process studies at 47°N, 20°W. *Deep-Sea Research*. **41**: 1617–1642.
- Niven, S.E.H., Kepkay, P.E. et Bugden, J.B.C.** 1997. The role of TEP in ²³⁴Th scavenging during a coastal diatom bloom, *Radioprotection*. **32**: 213–218
- Obernosterer, I. et Herndl, G. J.** 1995. Phytoplankton extracellular release and bacterial growth: Dependence on the inorganic N:P ratio. *Marine Ecology Progress Series*. **116**: 247–257.

- Ogawa, H. et Ogura, N.** 1992. Comparison of two methods for measuring dissolved organic carbon in sea water. *Nature*, London. **356**: 696–698.
- Pace, M. L. et Orcutt, J. D.** 1981. The relative importance of protozoans, rotifers and crustaceans in a freshwater zooplankton community. *Limnology and Oceanography*. **26**: 822-830.
- Pace, M.L., Cole, J.J. et Carpenter, S.R.** 1998. Trophic cascades and compensation: Differential responses of microzooplankton in whole-lake experiments. *Ecology*. **79**:138—152.
- Painchaud, J. et Therriault, J.C.** 1989. Relationships between bacteria, phytoplankton and particulate organic carbon in the Upper St. Lawrence Estuary. *Marine Ecology Progress Series*. **56**: 301-311.
- Passow, U.** 2000. Formation of Transparent Exopolymer Particles, TEP, from dissolved precursor material. *Marine Ecology Progress Series*. **192**: 1–11.
- Passow, U.** 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in the aquatic environments. *Progress in Oceanography*. **55**: 287-333.
- Passow, U. et Alldredge, A. L.** 1994. Distribution, size, and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*. **113**: 185–198.
- Passow, U. et Wassmann, P.** 1994. On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii* (Hariot): IV. The formation of marine snow by *P. pouchetii*. *Marine Ecology Progress Series*. **104**: 151–163.
- Passow, U. et Alldredge, A. L.** 1995. A dye-binding assay for the spectrophotometric measurement of transparent exopolymer particles (TEP). *Limnology and Oceanography*. **40**: 1326–1335.
- Passow, U., Alldredge, A. L. et Logan, B. E.** 1994. The role of particulate carbohydrate exudates in the flocculation of diatom blooms. *Deep Sea Research I*. **41**: 335–357.
- Passow, U., Kozlowski, W. et Vernet, M.** 1995. Distribution of Transparent Exopolymer Particles (TEP) during summer at a permanent station in Antarctica. *Antarctic Journal of the United States*. **30**: 265–266.
- Passow, U., Shipe, R. F., Murray, A., Pak, D. K., Brzezinski, M. A. et Alldredge, A. L.** 2001. Origin of transparent exopolymer particles (TEP) and their role in the sedimentation of particulate matter. *Continental Shelf Research*. **21**: 327–346.
- Persson, L.** 1986. Temperature-Induced Shift in Foraging Ability in Two Fish Species, Roach (*Rutilus rutilus*) and Perch (*Perca fluviatilis*): Implications for Coexistence between Poikilotherms. *Journal of Animal Ecology*. **55**: 829-839.
- Pilletier, J. P.** 1968. Un lac méromictique, le lac Pavin (Auvergne). *Annales de la Station Biologique de Besse-en-Chandesse*. **3**: 147-170.
- Ploug, H. et Grossart, H. P.** 2000. Bacterial growth and grazing on diatom aggregates: Respiratory carbon turnover as a function of aggregate size and sinking velocity. *Limnology and Oceanography*. **45**: 1467–1475.
- Ploug, H., Grossart H.P., Azam, F. et Jørgensen, B.B.** 1999. Photosynthesis, respiration and carbon turnover in sinking marine snow from surface waters of Southern California Bight: implications for the carbon cycling in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*. **179**: 1–11.
- Pomeroy, L.R. et Wiebe, W.J.** 1993. Energy sources for microbial food webs. *Aquatic Microbial Ecology*. **7**: 101-118.
- Porter, K.G. et Feig Y.S.** 1980. The Use of DAPI for Identifying and Counting Aquatic Microflora. *Limnology and Oceanography*. **25**: 943-948.
- Prieto, L., Navarro, G., Cozar, A., Echevarria, F. et Garcia, C.M.** 2006. Distribution of TEP in the euphotic and upper mesopelagic zones of the southern Iberian coasts. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. **53**: 1314–1328.

- Putt, M. et Stoecker, D.K.** 1989. An Experimentally Determined Carbon: Volume Ratio for Marine "Oligotrichous" Ciliates from Estuarine and Coastal Waters. *Limnology and Oceanography*. **34**: 1097-1103
- Radić, T., Kraus, R., Fuks, D., Radić J. et Pečar, O.** 2005. Transparent exopolymeric particles distribution in the northern Adriatic and their relation to microphytoplankton biomass and composition. *Science of the Total Environment*. **353**: 151– 161.
- Radić, T., Ivančić, I., Fuks, D. et Radić, J.** 2006. Marine bacterioplankton production of polysaccharidic and proteinaceous particles under different nutrient regimes. *FEMS Ecology Microbiology*. **58**: 333-342.
- Ramaiah, N., Yoshikawa, T. et Furuya, K.** 2001. Temporal variation in transparent exopolymer particles (TEP) associated with a diatom spring bloom in a subarctic Ria in Japan. *Marine Ecology Progress Series*. **212**: 79–88.
- Ramus, J.** 1977. Alcian Blue: A quantitative aqueous assay for algal acid and sulfated polysaccharides. *Journal of Phycology*. **13**: 348–445.
- Rassoulzadegan, F.** 1993. Protozoan patterns in the Azam-Ammerman's bacteriophytoplankton mutualism. In: *Trends in microbial ecology*. (ed.) Spanish Society for Microbiology Barcelona. P 435-439.
- Reynolds, C. S.** 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press. 398p.
- Riebesell, U.** 1991. Particle aggregation during a diatom bloom. I. Physical aspects. *Marine Ecology Progress Series*. **69**: 273–280.
- Riebesell, U., Reigstad, M., Wassmann, P., Noji, T. et Passow, U.** 1995. On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii* (Hariot): VI. Significance of Phaeocystis-derived mucus for vertical flux. *Netherlands Journal of Sea Research*. **33**: 193–203.
- Rivkin, R.B., Anderson, R.M. et Lajzerowicz, C.** 1996. Microbial processes in cold oceans. I. Relationship between temperature and bacterial growth rate. *Aquatic Microbial Ecology*. **10**: 243-254.
- Romo, S., Miracle, M.A.R., Villena, M.A.J., Rueda, J., Ferriol S. et Vicente E.** 2004. Mesocosm experiments on nutrient and fish effects on shallow lake food webs in a Mediterranean climate. *Freshwater Biology*. **49**: 1593–1607.
- Ryther, J.H.** 1969. Photosynthesis and fish production in the sea: the production of organic matter and its conversion to higher forms of life vary throughout the world ocean. *Science*. **166**: 72-76.
- Sanders, R.W., Caron, D.A. et Berninger, U.G.** 1992. Relationship between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. *Marine Ecology Progress Series*. **86**: 1-14.
- Sarnelle, O.** 1992. Contrasting effects of *Daphnia* on ratios of nitrogen to phosphorus in a eutrophic, hard-water lake. *Limnology and Oceanography*. **37**: 1527–1542.
- Sarnelle, O.** 1999. Zooplankton effects on vertical particulate flux: testable models and experimental results. *Limnology and Oceanography*. **44**: 357–70.
- Sarnelle, O.** 2005. *Daphnia* as keystone predators: effects on phytoplankton diversity and grazing resistance. *Journal of Plankton Research*. **27**: 1229–1238.
- Schoenberg, S.A. et Maccubbin, A.E.** 1985. Relative feeding rates on free and particle-bound bacteria by freshwater macrozooplankton. *Limnology and Oceanography*. **30**: 1084-1090.
- Schuster, S. et Herndl, G. J.** 1995. Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea. *Marine Ecology Progress Series*. **124**: 227–236.

- Schuster, S., Arrieta, J.M. et Herndl, G.J. 1998. Adsorption of dissolved free amino acids on colloidal DOM enhances colloidal DOM utilization but reduces amino acid uptake by orders of magnitude in marine bacterioplankton. *Marine Ecology Progress Series*. **166**: 99–108.
- Scor-Unesco. 1966. Determination of photosynthetic pigments in sea water. UNESCO, Paris, pp 1–69.
- Senior, W. et Chevolut, L. 1991. Studies of dissolved carbohydrates (or carbohydrate-like substances) in an estuarine environment. *Marine Chemistry*. **32**: 19–35.
- Shackelford, S. et Cowen, J.P. 2006. Transparent exopolymer particles (TEP) as a component of hydrothermal plume particle dynamics. *Deep-Sea Research I*. **53**: 1677–1694.
- Sheer, E.B. 1988. Direct use of high molecular weight polysaccharide by heterotrophic flagellates. *Nature*. **335**: 348–351.
- Sherr, E.B. et Sherr, B.F. 2002. Significant of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*. **81**: 293–308.
- Shine C. L. et Alldredge, A.L. 2003. Does the marine copepod *Calanus pacificus* consume transparent exopolymer particles (TEP)? *Journal of plankton research*. **25**: 507–515.
- Simé-Ngando, T. 1991. Contribution à l'étude des protozoaires ciliés planctoniques de différents lacs: variabilités spatiotemporelles saisonnières et nyctémérales et relations avec les ressources microbiennes du milieu. Thèse de Doctorat de l'Université Blaise Pascal Clermont II, 462 p.
- Simon, M., Alldredge, A.L. et Azam, F. 1990. Bacterial carbon dynamics on marine snow. *Marine Ecology Progress Series*. **65**: 205–211.
- Simon, M., Grossart, H.P., Schweitzer, B. et Ploug, H. 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*. **28**: 175–211.
- Šmek, K., Macek, M., Seda, J. et Vyhnálek, V. 1990. Possible food chain relationships between bacterioplankton, protozoans, and cladocerans in a reservoir. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. **75**: 583 – 596.
- Smetacek, V. et Pollehne, F. 1986. Nutrient cycling in pelagic systems: A reappraisal of the conceptual framework. *Ophelia*. **26**: 401–428.
- Smith, D. C., Steward, G. F., Long, R. A. et Azam, F. 1995. Bacterial mediation of carbon fluxes during a diatom bloom in a mesocosm. *Deep-Sea Research*. **42**: 75–97.
- Sommer, U. et Sommer, F. 2006. Cladocerans versus copepods: the cause of contrasting top-down controls on freshwater and marine phytoplankton. *Oecologia*. **147**: 183–194.
- Søndergaard, M. et Middelboe, M. 1995. A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Marine Ecology Progress Series*. **118**: 283–294.
- Staats, N., Stal, L. J. et Mur, L. R. 2000. Exopolysaccharide production by the epipelagic diatom *Cylindrotheca closterium*: effects of nutrient conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **249**: 13–27.
- Sternner, R. W. 1989. The role of grazers in phytoplankton succession. In Sommer, U. (ed.) *Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities*, Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 107–170.
- Stewart, D. J., Kitchell, J.F. et Crowder, L.B. 1981. Forage Fishes and Their Salmonid Predators in Lake Michigan. *Transactions of the American Fisheries Society*. **110**: 751–763.
- Stoderegger, K. et Herndl, G. J. 1998. Production and release of bacterial capsular material and its subsequent utilization by marine bacterioplankton. *Limnology and Oceanography*. **43**: 877–884.

- Stoecker, D.K., Gifford, D.J. et Putt, M.** 1994. Preservation of marine planktonic ciliates: losses and cell shrinkage during fixation. *Marine Ecology Progress Series*. **110**: 293-299.
- Sugimoto, K., Fukuda, H., Baki, M.A. et Koike, I.** 2007. Bacterial contributions to formation of transparent exopolymer particles (TEP) and seasonal trends in coastal waters of Sagami Bay, Japan. *Aquatic Microbial Ecology*. **46**: 31–41.
- Suzuki, N. et Kato, K.** 1953. Studies on suspended materials. Marine snow in the sea. I. Sources of marine snow. *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*. **4**:132–135.
- Tanaka, T.** 1981. Gels. *Scientific America*. **244**: 124–138.
- Utermöhl, H.** 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplanktonmethodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*. **9**: 1–38.
- Vandevivere, P. et Kirchman, D. L.** 1993. Attachment Stimulates Exopolysaccharide Synthesis by a Bacterium. *Applied Environmental Microbiology*. **59**: 3280-3286.
- Vanni, M.J., Layne, C.D. et Arnott, S.E.** 1997. "Top-down" trophic interactions in lakes: Effects of fish on nutrient dynamics. *Ecology*. **78**: 1-20.
- Vaqué, D. et Pace, M.L.** 1992. Grazing on bacteria by flagellates and cladocerans in lakes of contrasting food-web structure. *Journal of Plankton Research*. **14**: 307-321.
- Vaulot, D.** 1989. CytoPC: processing software for flow cytometric data. *Signal Noise* 2, 8.
- Verdugo, P. Alldredge, A.L., Azam, F., Kirchman, D.L., Passow, U. et Santschi, P.H.** 2004. The oceanic gel phase: a bridge in the DOM–POM continuum. *Marine Chemistry*. **92**: 67– 85.
- Villacorte, L.O., Kennedy, M.D., Amy, G.L. et Schippers, J.C.** 2009. The fate of Transparent Exopolymer Particles (TEP) in integrated membrane systems: Removal through pre-treatment processes and deposition on reverse osmosis membranes. *Water Research*. **43**: 5039–5052.
- Weisse, T.** 2006. Freshwater ciliates as ecophysiological model organisms – lessons from *Daphnia*, major achievements, and future perspectives. *Archiv fur Hydrobiologie*. **167** : 371–402.
- Wetzel, R.G.** 2003; Dissolved organic carbon, detrital energetics, metabolic regulators, and drivers of ecosystem stability of aquatic ecosystems. In: *Aquatic Ecosystems Interactivity of Dissolved Organic Matter* (Eds S.E.G. Findlay & R.L. Sinsabaugh), pp. 455–477. Academic Press, New York.
- Wiebe, W. J. et Pomeroy, L. R.** 1972. Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: A microscopic study. Pallanza, Italy: IBP-UNESCO Symposium.
- Williams, P. J.** 1990. The importance of losses during microbial growth: Commentary on the physiology, measurement, and ecology of the release of dissolved organic material. *Marine Microbial Food Webs*. **4**: 175–206.
- Winfield, I. J. et Nelson, J. S.** 1991. *Cyprinid Fishes: Systematics, Biology and Exploitation*. London: Chapman & Hall.
- Wingender, J., Neu, T.R. et Flemming, H.C.** 1999. What are bacterial extracellular polymeric substances? In: J. Wingender, T.R. Neu and H.-C. Flemming, Editors, *Microbial Extracellular Polymeric Substances*, Springer-Verlag, Berlin (1999), pp. 1–19.
- Worm, J. et Søndergaard, M.** 1998. Alcian Blue-stained particles in an eutrophic lake. *Journal of Plankton Research*. **20**: 179-186.
- Zimmermann, H.** 1997. The microbial community on aggregates in the Elbe estuary. *Aquatic Microbial Ecology*. **13**: 37–46.

- Zimmermann-Timm, H. et Kausch, H.** 1996. Microaggregates in the Elbe Estuary: structure and colonization during spring. *Archiv fuer Hydrobiologie Spec Issues: Advances in Limnology*. **48**:85–92.
- Zimmermann-Timm, H., Holst, H. et Müller, S.** 1998. Seasonal dynamics of aggregates and their typical biocoenosis in the Elbe Estuary. *Estuaries*. **21**: 613–621.
- Zhou, J., Mopper, K. et Passow, U.** 1998. The role of surface-active carbohydrates in the formation of transparent exopolymer particles by bubble adsorption of seawater. *Limnology and Oceanography*. **43**: 1860–1871.
- Zöllner, Z., Santer, B., Boersma, M., Hoppe, H.J. et Jürgens, K.** 2003. Cascading predation effects of *Daphnia* and copepods on microbial food web components. *Freshwater Biology*. **48** : 2174–2193.

Les Particules d'Exopolymères Transparentes (Transparent Exopolymer Particles : TEP) en milieu pélagique lacustre – Relation avec le phytoplancton et rôle dans les réseaux trophiques microbiens

Résumé

Ce travail est une contribution à la connaissance de l'importance des Particules de nature polysaccharidique, les TEP (Transparent Exopolymer Particles) ou particules d'Exopolymères Transparentes, en milieu pélagique lacustre. Les différentes études présentées dans ce mémoire se sont essentiellement focalisées sur la distribution de ces particules et leur relation avec le phytoplancton et les autres microorganismes du réseau trophique aquatique en milieu naturel (le lac Pavin, oligo-mésotrophe et le réservoir hypereutrophe de Grangent) et en conditions semi-contrôlées (enclos limniques installés sur le lac de Créteil). Les résultats de l'étude printanière au lac Pavin indiquent que la majorité des TEP sont colonisées par les bactéries et que l'intensité de colonisation est fortement liée à la température et diminue avec l'augmentation en taille des particules. La distribution des nanoflagellés hétérotrophes (HNF) est fortement liée à la densité des TEP mais pas à l'intensité de colonisation de ces particules. L'abondance et la surface cumulée de TEP sont significativement plus élevées dans le lac oligo-mésotrophe que dans le réservoir hypereutrophe de Grangent. Les abondances et les concentrations élevées de particules dans le lac Pavin coïncident avec la présence de diatomées de grande taille au printemps et en automne et avec les chlorophycées à la fin de l'été. Dans le réservoir de Grangent les valeurs maximales de TEP coïncident avec le développement de la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa*. Si les TEP augmentent avec la productivité de l'écosystème, la production de ces particules par unité de chlorophylle *a* dépend de la composition algale et tend à diminuer avec l'augmentation du niveau trophique du milieu. Les résultats issus de la biomanipulation en enclos limniques indiquent que la structure du réseau trophique aquatique (par la présence ou l'absence de poissons planctonophages) influence fortement la distribution, la dynamique et le spectre de taille des TEP. Dans le traitement poisson, l'abondance des TEP, la chlorophylle *a* et la biomasse des chlorophycées sont fortement corrélées. De par son broutage sur le phytoplancton, le zooplancton a un effet négatif sur les TEP dans le traitement sans poissons mais il contribue sans doute à la formation de TEP et influence le spectre de taille de ces dernières dans ce traitement. Ce travail souligne l'importance des particules de nature polysaccharidique en milieu pélagique lacustre qui doivent être considérées comme une part importante du carbone organique qui transite des producteurs primaires vers les décomposeurs et vers le sédiment.

Mots clés : Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP), phytoplancton, bactérie, nanoflagellés hétérotrophes (HNF), lac.

Transparent Exopolymer Particles in pelagic freshwater environments – Relationships with phytoplankton and significance in the freshwater microbial food web

Abstract

This work adds to the knowledge of the significance of polysaccharidic detrital particles or TEP (= Transparent Exopolymer Particles) in freshwater pelagic environments. Studies in this thesis have mainly focused on the distribution of TEP and their relationships with phytoplankton and other microorganisms in natural environments (the oligo-mesotrophic Lake Pavin and the hypereutrophic reservoir of Grangent) and in limnetic enclosures (lake of Créteil). The intensity of bacterial colonization during spring in Lake Pavin was strongly related to temperature and decreased with particle size. The abundance of heterotrophic nanoflagellates (HNF) in this lake was more significantly related to the density of the particles than to the density of total bacteria and the intensity of bacterial colonization of TEP, suggesting that TEP is a more important factor for HNF development than attached and free bacteria. The abundance and the total surface area of the particles were significantly higher in the hypereutrophic Lake Grangent than in the mesotrophic Lake Pavin. Maximum TEP density in Lake Pavin was recorded during the spring diatom bloom, while TEP concentration peaked in late summer when the phytoplankton community was largely dominated by small-size chlorophytes with an abundant polysaccharide cell coating. In the hypereutrophic Lake Grangent, maximum values of TEP appeared during the summer development of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Per cell production of TEP, expressed by the ratio between TEP concentration and chlorophyll *a* concentration, was significantly higher in the less productive lake and the analysis of the size spectra of the particles indicated a greater proportion of small particles in this lake. TEP therefore appear as more significant for microbial development and aggregates formation in the less productive environment. Results from limnetic enclosures (either dominated by planktivorous fish or fishless) indicated that food-web structure strongly influences the distribution and size spectra of TEP. TEP abundances were related to chlorophyll *a* concentrations and the biomass of chlorophytes in the fish treatment. As expected by the trophic cascades theory, zooplankton had an indirect negative effect on TEP abundance. Our results suggest, however, that metazoan probably influence the formation and the size spectra of the particles in the fishless treatment. TEP must be regarded as a major part of the organic carbon which is transferred from the primary producers to the microbial food web and the sediments in freshwater ecosystems.

Keywords : transparent exopolymer particles (TEP), phytoplankton, bacteria, heterotrophic nanoflagellates (HNF), lake.