Thèse de doctorat de Sorbonne Université

Spécialité écologie microbienne

Ecole doctorale 227

« Sciences de la Nature et de l'Homme : évolution et écologie »

Présentée et soutenue publiquement par

M^me^ Solène Breton

Le 31 Octobre 2018

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de Sorbonne Université

Sujet de la thèse :

Relation entre le métabolisme lipidique membranaire et l'adaptation à la température chez les picocyanobactéries marines du genre *Synechococcus*.

Devant un jury composé de :

Christophe Six, *Maitre de Conférences Sorbonne Université*…….....Directeur de thèse

Corinne Cassier-Chauvat, *Directrice de recherche CNRS, CEA Paris-Saclay*.....Rapportrice

José Manuel García-Fernández, *Professeur, Université de Cordoba*.....Rapporteur

Gaël Bougaran, *Chargé de recherche, IFREMER Nantes*.....Examinateur

François Lallier, *Professeur Sorbonne Université*..... Examinateur

UMR 7144 SU-CNRS

Adaptation et Diversité en Milieu Marin, Equipe Procaryotes Phototrophes Marins

Cette thèse a bénéficié d'un cofinancement de l'Ecole Doctorale 227 « Sciences de la Nature et de l'Homme : évolution et écologie » du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) et de la Région Bretagne.





Relation entre le métabolisme lipidique membranaire et l'adaptation à la température chez les picocyanobactéries marines du genre *Synechococcus*

Les picocyanobactéries marines sont les plus petits organismes photosynthétiques, mais aussi les plus abondants sur Terre, assurant près de 20% de la production primaire océanique. Parmi elles, les *Synechococcus* marins présentent une large distribution latitudinale qui peut s'expliquer par la spécialisation physiologique de lignées phylogénétiques le long du gradient latitudinal de température du globe (*i.e.* écotypes de température). Pour ces cellules phototrophes, la régulation de la fluidité des membranes, où se situent les complexes photosynthétiques, est absolument essentielle pour la survie de la cellule à différentes températures. Cependant, très peu de données sont disponibles sur la composition lipidique des membranes et sa régulation chez les cyanobactéries marines. Mon travail de thèse a consisté en une étude de thermophysiologie comparée de souches représentatives des clades dominants les communautés naturelles de *Synechococcus* dans les océans, habitant différentes niches thermiques. Nous avons montré que les différents écotypes de température ont des *preferenda* thermiques distincts et ajustent leur appareil photosynthétique en fonction de la température de croissance. Une étude de lipidomique a permis de mettre en évidence les spécificités membranaires de ces cyanobactéries marines. De plus, cette étude montre qu'en utilisant une trentaine d'espèces moléculaires de lipides, les écotypes de températures utilisent des stratégies de thermorégulation différentes basées sur l'activité différentielle d'enzymes lipide-désaturases. Mon travail de thèse suggère ainsi que la régulation de la fluidité membranaire a représenté un verrou physiologique pour la colonisation de différentes niches thermiques par les *Synechococcus* marins durant leur microdiversification en écotypes au cours de l'évolution.

Relationship between membrane lipid metabolism and temperature adaptation in marine picocyanobacteria of the genus *Synechococcus*

Marine picocyanobacteria are the smallest, but also the most abundant photosynthetic organisms on Earth, responsible for nearly 20% of oceanic primary production. Among them, marine *Synechococcus* display a wide latitudinal distribution that is underpinned by the physiological specialization of phylogenetic lineages along the latitudinal gradient of temperature (*i.e.* temperature ecotypes). For these photosynthetic cells, the regulation of the membrane fluidity, where the photosynthetic complexes are located, is essential for the cell survival at different temperatures. However, very little data is available on the lipid composition of membranes and its thermoregulation in marine cyanobacteria. My PhD thesis is a comparative thermophysiology study of strains representative of the major clades of the natural communities in the oceans, inhabiting different thermal niches. We showed that the different temperature ecotypes have distinct thermal *preferenda* and adjust their photosynthetic apparatus depending on the growth temperature. A lipidomic study allowed evidencing the membrane specificities of these marine cyanobacteria. In addition, this study shows that, using nearly 30 molecular species of membrane lipids, the temperature ecotypes have implemented different thermoregulation strategies, which are based on the differential activities of lipid desaturase enzymes. My thesis work suggests that the regulation of membrane fluidity has been an important matter for the colonization of different thermal niches by marine *Synechococcus* during their evolutionary ecotypic microdiversification.

L'homme et la mer

Homme libre, toujours tu chériras la mer !
La mer est ton miroir ; tu contemples ton âme
Dans le déroulement infini de sa lame,
Et ton esprit n'est pas un gouffre moins amer.

Tu te plais à plonger au sein de ton image ;
Tu l'embrasses des yeux et des bras, et ton cœur
Se distrait quelquefois de sa propre rumeur
Au bruit de cette plainte indomptable et sauvage.

Vous êtes tous les deux ténébreux et discrets :
Homme, nul n'a sondé le fond de tes abîmes ;
Ô mer, nul ne connaît tes richesses intimes,
Tant vous êtes jaloux de garder vos secrets !

Et cependant voilà des siècles innombrables
Que vous vous combattez sans pitié ni remord,
Tellement vous aimez le carnage et la mort,
Ô lutteurs éternels, ô frères implacables !

Charles Baudelaire
(1821-1867)

Remerciements



Ambiance studieuse et conviviale au laboratoire de Roscoff, Août 1926

Je souhaite remercier les entités sans lesquelles ce travail de thèse n'aurait pas pu être réalisé :

Merci à la Région Bretagne et à l'Ecole doctorale 227 : « Sciences de la Nature et de l'Homme : évolution et écologie » pour avoir financé cette thèse ainsi qu'à l'ANR SAMOSA et au projet EC2CO Metalic pour le financement du fonctionnement de ce travail ;

Je remercie les membres de mon jury : José Manuel Garcia, Corinne Cassier-Chauvat, Gaël Bougaran et François Lallier pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse ;

Un très grand merci à l'équipe Biogenèse, dynamique et homéostasie des lipides membranaires du Commissariat à l'Energie Atomique de Grenoble, et notamment à Eric Maréchal, Juliette Jouhet et Valérie Gros pour toutes les analyses de lipidomique;

Un merci tout particulier à l'équipe de la Collection de Cultures de Roscoff pour m'avoir fourni les souches de *Synechococcus* dont j'avais besoin ;

Merci aux membres de mon comité pour avoir suivi mon travail de thèse : Anne-Claire Baudoux, Philippe Soudant ainsi que Christophe Destombe pour leurs conseils avisés et leur écoute ;

Pour finir ces remerciements plus formels, je tenais à remercier Ulysse Guyet et Laurence Garczarek pour les données de métagénomique SAMOSA, David Demory pour le travail de modélisation de croissance sur les souches SAMOSA, Dominique Marie pour les analyses cytométriques des échantillons METALIC, ainsi qu'aux people involved pour les expériences SAMOSA de stress thermiques 24h/24, 7j/7 !

« L'homme ne peut découvrir de nouveaux océans
à moins qu'il ait le courage de perdre de vue le rivage »

André Gide

La première personne qu'il me doit de remercier est mon directeur de thèse. ***Christophe***, merci pour tout ce que tu m'as appris pendant ces 3 ans et demi. J'ai le sentiment d'avoir fait un si grand bond en avant grâce à toi ! Ta pédagogie, ta persévérance et ta patience ont été les meilleurs outils avec moi. Je ne pourrais faire une liste exhaustive de tout ce que j'ai appris en travaillant à tes côtés, le meilleur moyen est peut-être de se souvenir de la petite stagiaire très désordonnée, arrivée en janvier 2015 (!), Merci pour tout, vraiment.

Lôh, sacrée chef d'équipe ! Merci pour la Maman MaPP que tu es. Merci pour tes conseils et les discussions, scientifiques ou pas ! ***Fred***, merci également à toi pour le regard que tu portes sur le travail des MaPP ;

Momo, L'irremplaçable Tata des thésards MaPP. Je te remercie pour toutes les discussions du matin, du midi et de l'après-midi aussi, légères, ou plus terre à terre ! Merci aussi pour tes moments de folie pendant les stress, pour ton soutien et ta franchise ;

Domi, le Papa, le MacGyver de l'équipe, le roi du cytomètre ! Merci pour les analyses cytométriques, et pour les discussions de bonhomme du midi ;

Ulysse, merci pour tes petites blagues et les éclats de rire ! MaPP Bro' ! Merci pour les données de métaG du papier et de t'être pris le chou sur les figures ! ;

Anne-Claire, merci d'avoir fait partie de mon comité de thèse. J'en profite également pour remercier ***Nathalie***. Merci à vous deux pour vos nombreux et précieux conseils, et pour votre douceur et votre bienveillance ;

Merci aux anciens, ***Théophile, Hugo, Justine***, merci pour vos conseils, pour les discussions post-thèse, pour les expériences de stress et les « on a shifté back ? », merci à toi ***Laura*** de m'avoir aidée pour les petites subtilités de mise en page ;

Merci à la RCC, toute la RCC, l'indispensable RCC sans qui je n'aurais pas eu de souches de *Syn* ! Mais également pour les discussions des repas du midi et les moments de pause ; La RCC qui a vu passer du monde ! De peur d'en oublier, je ne citerais pas de noms mais le cœur y est ;

Merci à cette cohésion de groupe, qui fait de ***Phytopk*** bien plus qu'une équipe de travail, une petite famille. C'est une ambiance qui m'est chère et qui a beaucoup compté pour moi – même si on ne peut pas être d'accord sur tout, c'est ce qui enrichit les rapports humains quand on sait en tirer le meilleur.

Merci à tous les stagiaires qui sont passés par ici, que je ne cite pas non plus de peur d'en oublier ! Merci également à ceux avec qui j'ai échangé quelques mots lors des pots au ***Ty Pierre ;***

Merci à tout le personnel de la station biologique à qui on ne pense pas forcément, mais qui font qu'elle tourne rond : Brigitte, Christine, Marie-Bernadette, Franck et Barbara, Céline, Martine, …

***

Pour finir cette partie plus formelle, je souhaite avoir quelques pensées pour ceux qui m'ont vue faire mes premiers pas en biologie marine et dans le monde de la recherche : Merci aux chercheurs, enseignants-chercheurs et scientifiques du ***Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences de Wimereux*** dont j'ai croisé le chemin scientifique. A très bientôt !

« Les bons amis t'aident à retrouver des
choses importantes lorsque tu les as perdues :
ton sourire, ton espoir et ton courage »

Doe Zantamata

Margot, merci d'être telle que tu es ! Tu as été là tout du long, jusqu'à l'impression de ce manuscrit ! Merci pour m'avoir soutenue, fait rire et accompagnée. Merci pour les discussions face à la mer, tes conseils, ta sagesse, et tes moments de folie si… surprenants ! ;) ;

Joanne, merci pour cette jolie amitié, Belle Gosse Extrême Extrême ! Merci d'avoir été là lors de mon stage de master, et merci de continuer à l'être, même si des milliers de km nous séparent. ***Cocoti***, merci pour tous ces fous rires, crapotages et bons moments passés en ta compagnie ! Bonne chance à toi à Québec city, c'est bientôt ton tour !! ;

Pym, mon pote de dwich ! Merci pour toutes ces discussions sur nos avenirs, merci pour les fous rires, les moments de pause. Je te souhaite tout le courage et la persévérance nécessaire pour cette dernière année ! ;

Delphine, ma copine de couture. Merci pour ton amitié, ta présence quand tu étais à Roscoff, tes petits mots d'encouragement, et nos petites discussions couture ou science, tes conseils et ta bienveillance.

Autant d'années, autant éloignées et pourtant toujours présentes. C'est à cela que l'on reconnait les vraies amitiés. Mon Crew à moi, le ***Gossip Crew***. Ce paragraphe est pour vous ! ***Camille, Célia, Diane, Noémie, Audrey*** : Merci pour vos gentils mots, pour les moments de retrouvailles et les perpétuels encouragements qui m'ont remotivée. J'y suis arrivée, vous aviez raison ! Vous êtes une sacrée troupe de supportrices ! Jusqu'au dernier moment vous avez été là ! ***Nono***, courage ! C'est la dernière ligne droite ! Merci pour ces échanges alors que nous étions toutes les deux en rédaction. Merci pour ces piqures de motivation quand ça allait moins bien !).

Les dernières marches vers le monde des grands.

Maman, ma McGyver à moi. Merci pour tout. Pour le petit cahier à pois rouges commencé il y a des années, en passant par toutes les portes ouvertes, jusqu'aux heures passées au téléphone et les colis qui sentent bon *Nocturne* de Caron. Je t'ai dit il y a 18 ans « Maman, c'est ça que je veux faire ! » et tu as joué le jeu. Sans toi je n'y serais jamais arrivée. Merci d'avoir posé les bonnes questions quand il le fallait, et de t'être retenue de les poser quand tu sentais le trop plein. Pardon d'être si loin. Un paragraphe est si court pour te remercier, alors pour résumer, merci d'avoir tenu les deux rôles, aussi bien que tu as pu le faire et que tu continues encore à le faire. Les parents sont fiers de leurs enfants, mais n'oublie pas que moi, je suis fière de toi ;

Loïc, on a tant traversé. Tu es mon frère, je t'aime. Je sais que le temps fera son œuvre. Un jour tu comprendras… ;

Papou & Manou, merci de votre présence. Vous ne *le* dites que très rarement, mais vos marques de fierté et votre amour m'ont porté durant toutes ces années. Il faudrait être aveugle pour ne pas les voir. Merci pour ces attentions, qui m'ont suivie et encouragée. *Je vous aime, fort !* Je souhaite aussi remercier ***(Bébé) Franck*** & ***Nadia*** et leurs deux trouspettes, ***Sarah & Sélia***. Vous avez fait de mes samedis boulonnais des doses d'amour pur à emporter avec moi ;

Yann, *mon bonami*, pour finir, je t'adresse mes plus amoureux remerciements. Merci d'être là, d'avoir écouté, retenu, et surtout su retranscrire ce que je fais ! Merci d'écouter mes monologues passionnés sur la mer, mais surtout, merci pour ta patience, ta bienveillance et cet Amour qui me porte bien plus loin que je n'aurais plus l'imaginer.

"Be always like the sea, than breaking up against cliffs
it finds always the force to try again"

Jim Morrison



Digue Nord de Wimereux, Pas-de-Calais, un jour de tempête 2014 (source : L'Express)

À cette bonne étoile qui m'a fait rencontrer
les bonnes personnes, aux bons moments.

Valorisation scientifique du projet de thèse

Publications dans des journaux à haut comité de lecture

Article cours de rédaction

Breton S., Jouhet J., Gros V., Guyet U., Pittera J., Garczarek L., Partensky F., Doré H., Ratin M., Maréchal E., Nguyen N. A., Demory D., & C. Six. Unveiling strategies of thermoregulation of the membrane lipid composition in marine *Synechococcus*. Revue envisagée : The ISME Journal.

Article accepté

Pittera J., J. Jouhet, **S. Breton**, L. Garczarek, F. Partensky, E. Maréchal, N. A. Nguyen, H. Doré, M. Ratin, F. D. Pitt, D. J. Scanlan & C. Six Thermoacclimation and genome adaptation of the membrane lipidome in marine *Synechococcus*. Environmental Microbiology 2018 (Annexe 1 page 183).

Congrès nationaux et internationaux

Communications orales

Breton S., Thermorégulation de la composition lipidique des *Synechococcus* marins. Meeting final du projet ANR SAMOSA, 29 janvier 2018, Nantes.

Breton S., Thermal *preferenda* and lipidomics in different *Synechococcus* thermotypes: state of play. Meeting SAMOSA à 30 mois, 16 juin 2016, Roscoff.

Posters

Breton S., J. Jouhet, U. Guyet, V. Gros, J. Pittera, D. David, M. Ratin, E. Maréchal, F. Partensky, H. Doré, N.A. Nguyen, L. Garczarek & C. Six. Thermoregulation of membrane lipid composition in marine picocyanobacteria. International Society of Photosynthesis Research, Microbial Photosynthesis, 9-12 August 2018, Vancouver, Canada (*Présenté par C. Six*).

Breton S., J. Jouhet, U. Guyet, V. Gros, J. Pittera, D. David, M. Ratin, E. Maréchal, F. Partensky, H. Doré, N.A. Nguyen, L. Garczarek & C. Six. Thermoregulation of membrane lipid composition in picocyanobacteria: Towards an understanding of adaptation to thermal niches. 10th European Workshop on the Molecular Biology of Cyanobacteria, 20-24 August 2017, Cluj-Napoca, Romania.

Breton S., Jouhet J., Pittera J., Doré H., Garczarek L., Ratin M., Nguyen N.A., Partensky F., Maréchal E. & Six C. Impact of temperature on the membrane lipid composition of *Synechococcus sp.* WH7803. 8th Young Scientists and Researchers Day, Dec. 2016, Station Biologique de Roscoff

Breton S., Six C., Marine cyanobacteria lipid metabolism and latitudinal temperature gradient. 7th Young Scientists and Researchers Day, Dec. 2015, Station Biologique de Roscoff

Formations doctorales suivies

Novembre 2015 (Responsables Christophe Six et Nathalie Simon)

Unité d'Enseignement 5UM25 « MICROMOL » : « Les MICRObes marins : approches MOLéculaires de leurs diversité taxonomique et fonctionnelle », Master « Sciences De l'Univers, Environnement, Ecologie », Spécialité « Océanographie et Environnement Marin », Sorbonne Université (Module Technique, 18h).

Avril 2016 (Responsable : Anne Chéret)

Formations managériales de Sorbonne Université. Eveil au monde de l'entreprise, apprendre à manager une équipe (Module Professionnel, 18h).

Avril 2017 (Responsable : Paule Biaudet)

Cycle Projet Professionnel de Sorbonne Université. Apprendre à construire son projet professionnel en cohérence avec ses compétences et ses envies (Module Professionnel, 18h).

Premier semestre 2018

Formation Ethique et Recherche, séries de conférences vidéos de Sorbonne Université (Module Professionnel, 18h).

Projets annexes

1er trimestre 2018 :

Accompagnement d'élèves de 1ère S/ES autour d'un mini-projet scientifique. Le but était de susciter un intérêt pour les études longues à des jeunes qui n'en auraient pas les moyens financiers, malgré de très belles capacités (Module d'ouverture, 18h).

Janvier 2018 :

Organisation d'un colloque scientifique au sein de la Station Biologique de Roscoff. En deux temps, tout d'abord les « jeunes scientifiques » de la station ont présenté leurs travaux (3 formats au choix : talks de 10 minutes, présentations type « Ma Thèse en 180 secondes », ou posters) qui ont été soumis à un concours des meilleures présentations. Elles étaient ponctuées d'interventions de chercheurs extérieurs à la Station, autour du thème des Biotechnologies bleues et de l'innovation en sciences de la mer (Module d'ouverture, 18h).

Table des matières

Introduction

Préambule 15

1. De la biologie marine à l'océanographie biologique 15

2. De l'importance des organismes microscopiques 17

3. Zoom sur le phytoplancton marin 19

3.1. Les rôles biologiques et écologiques du phytoplancton 20

3.2. Quelques enjeux sociétaux de la recherche sur le phytoplancton 22

Partie I. La diversité des cyanobactéries 25

I.1. Origine et évolution des cyanobactéries 25

I.1.1 Les cyanobactéries et la complexification de la vie sur Terre 25

I.1.2 Un groupe d'une grande diversité 27

I.1.3 Les picocyanobactéries marines 29

I.2 Le genre *Synechococcus* 31

I.2.1 Diversité et phylogénie 31

I.2.2 Morphologie et ultrastructure 33

I.3 La photosynthèse chez les *Synechococcus* marins 34

I.3.1 Généralités et fonctionnement 34

I.3.2 Composition pigmentaire 38

I.3.3 Impacts de la variation de paramètres abiotiques sur la photosynthèse 45

Partie II. L'adaptation des cyanobactéries marines aux variations de température des océans 55

II. 1. Facteurs de variations de la température des océans 55

II. 1. 1. Variations verticales de la température 55

II. 1. 2. Variations latitudinales de température des eaux de surfaces 56

II. 1. 3. Le cas particulier des upwellings 57

II. 2. Un facteur primordial de la distribution des organismes 58

II. 2. 1. Différenciation écotypique au sein du picophytoplancton 59

Partie III. Réponse des membranes cyanobactériennes à la température 70

III. 1. Le système membranaire cyanobactérien 70

III. 1. 1. Structure générale et rôles biologiques 70

III. 1. 2. Thermorégulation des membranes cyanobactériennes 82

Partie IV. Problématiques et objectifs de la thèse 88

Chapitre 1 Matériels et méthodes 93

Sélection et conditions de culture des souches de *Synechococcus* 95

Comparaison de la thermophysiologie de quatre souches des clades I, II, III, et IV 95
Cytométrie en flux 98
Mesures et analyses des paramètres biophysiques de la photosynthèse (*in vivo*) 100
Analyses pigmentaires 101
Analyses de lipidomique membranaire 104
Récolte des échantillons 104
Extraction des lipides membranaires 104
Régiolocalisation des acides gras sur le glycérol 105
Quantification relative des espèces moléculaires de lipides membranaires 108
Chapitre 2 : Stratégies de thermorégulation de la composition en lipides membranaires chez les *Synechococcus* marins 113
Contexte de l'étude 115
Résultats 117
Preferenda thermiques et activité photosynthétique 117
Analyse du lipidome membranaire 120
Discussion 140
Capacités de croissance des thermotypes de *Synechococcus* marins 140
Capacités photosynthétiques et température 141
Composition générale des membranes de *Synechococcus* marins 142
Thermorégulation des membranes chez les thermotypes de *Synechococcus* marins 143
Fonction des lipide-désaturases chez les thermotypes de *Synechococcus* marins 145
Conclusions & perspectives 149
Bibliographie 163
Annexes 181

Liste des abréviations

Acétyl-CoA : Acétyl-Coenzyme A

APC : Allophycocyanine

ATP : Adénosine triphosphate

CA : Anhydrase carbonique

CDP-DG : Cytidine 5'-diphosphate-DG

Chl *a* : Chlorophylle *a*

CR : Centre réactionnel

DCMU : 3-(3,4 dichlorophényl)-1,1-dimétylurée

DG : Diacylglycérol

DGDG : Digalactosyldiacylglycérol

DH : 3-hydroxyacyl-ACP déhydrase

ENR : Enoyl-ACP réductase

ESTU: Ecologically Significant Taxonomic Units

FAS: Fatty acid synthétases

FRP : Protéine de récupération de la fluorescence

FSC : *Forward Scattering*, diffusion à 180°

F_V/F_M : Rendement quantique moyen du photosystème II

GlcDG : Monoglucosyldiacylglycérol

GPAT : G3P acyltransférase

G3P : Glycérol-3-phosphate

HL: *High light*, forte lumière

HLIP: *High Light Inducible Proteins*, protéines inductibles par les fortes lumières

KAS: 3-ketoacyl-ACP synthétase

KR: 3-ketoacyl-ACP réductase

LL: *Low light*, basse lumière

LPA: Acide lysophosphatidique

LPAAT : LPA acyltransférase

MCAT : Malonyl-CoA :ACP transacyclase

MGDG : Monogalactosyldiacylglycérol

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NPQ : *Non Photochemical Quenching*, extinction de fluorescence non-photochimique

OEC : *Oxygen Evolving Complex*, complexe de photolyse de l'eau

OCP : *Orange Carotenoid Protein*, caroténo-protéine orange

PA : Acide phosphatidique

PBP : Phycobiliprotéine

PBS : Phycobilisome

PC : Phycocyanine

PCB : Phycocyanobiline

PE : Phycoérythrine

PEB : Phycoérythrobiline

PG : Phosphatidylglycérol

PGP : Phosphatidylglycérophosphate

PS : Photosystème

PTOX : *Plastid Terminal Oxidase*, oxydase terminale plastidique

PUB : Phycourobiline

PQ : Plastoquinones

ROS : Reactive Oxygen Species, espèces réactives d'oxygène

RuBisCO : Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Oxygénase

sn- : *Stereospecific number*, nombre stéréospécifique

SQDG : Sulfoquinovosyldiacylglycérol

SSC : *Side Scattering*, diffusion à 90°

TLC : Chromatographie sur couche mince

Liste des figures, tableaux et annexes

Figure 1| Deux grands scientifiques du XVIII^{è} siècle qui ont contribué aux premières découvertes océanographiques. 15

Figure 2| Planche de E. Haeckel illustrant l'embranchement des diatomées..... 16

Figure 3| Représentation de la diversité du plancton 18

Figure 4| Classification des différentes classes de tailles du phytoplancton 19

Figure 5| Réseau trophique pyramidal en milieu marin..... 20

Figure 6| Cycle de la matière organique en milieu pélagique. 22

Figure 7| Exemple d'une espèce phytoplanctonique bioluminescente, ici le Dinophyte *Noctiluca scintillans.* 23

Figure 8| Exemple d'une espèce phytoplanctonique toxique, ici *Alexandrium sp*. 24

Figure 9| Evolution de la composition atmosphérique de la Terre au fil des grands évènements biologiques et chimiques associés. 25

Figure 10| Schématisation des processus d'endosymbioses. 27

Figure 11| Illustration de la diversité morphologique des cyanobactéries. 29

Figure 12| Cellule de *Prochlorococcus* sp. et *Synechococcus* sp. 30

Figure 13| Modèles de distribution globale des genres de picocyanobactéries marines dominants les océans. 31

Figure 14| Arbre phylogénétique des picocyanobactéries marines basé sur le gène 16S de l'ARN ribosomal. 32

Figure 15| Représentation schématique d'une cyanobactéries du genre *Synechococcus* 33

Figure 16| Structure d'un monomère de centre réactionnel du PSII de cyanobactérie 35

Figure 17| Représentation des principaux complexes protéiques thylacoïdiens impliqués dans le transfert linéaire d'électrons photosynthétiques chez *Synechococcus*. 36

Figure 18| Schéma en « Z » représentant le transfert d'électrons lors de la photosynthèse oxygénique conduisant à la photolyse de l'eau, à la formation de dioxygène, d'ATP et de NADPH.. 37

Figure 19| Représentation du cycle de Calvin-Benson au sein d'une cellule cyanobactérienne..... 38

Figure 20| Spectres d'absorption de la lumière visible des pigments majoritaires retrouvés au sein des cellules planctoniques et structures moléculaires associées. 39

Figure 21| Structure du phycobilisome associé aux membranes thylacoïdiennes chez les cyanobactéries. . 40

Figure 22| Illustration des différents types pigmentaires chez les *Synechococcus* marins..... 42

Figure 23| Distribution des types pigmentaires (PT) des *Synechococcus* marins 44

Figure 24| Distribution putative des types pigmentaires de *Synechococcus* marins dans diverses niches lumineuses, en fonction de la distance à la côte et de la profondeur 45

Figure 25| Intermédiaires réduits de l'oxygène. 45

Figure 26| Modification du contenu pigmentaire en réponse à différents éclairement de culture chez la souche *Synechococcus* sp. WH8102 et diagramme illustrant les mécanismes de photoacclimatation des complexes photosynthétiques chez les *Synechococcus* marins 46

Figure 27| Schématisation du mécanisme de transitions d'état du phycobilisome. Photosystème II (PSII), photosystème I (PSI). 47

Figure 28| Cycle de réparation de la protéine D1 du photosystème II (PSII). 48

Figure 29| Représentation schématique de l'effet des UV sur le PSII et le phycobilisome de *Synechococcus* sp. WH8102. 49

Figure 30| Structure de la caroténo-protéine orange (OCP) et changement de conformation en fonction de son état actif ou inactif 51

Figure 31| Phylogénie des cyanobactéries, sur le gène *RpoC1*, et la distribution des gènes relatifs à l'OCP et ses homologues. 52

Figure 32| Modèle hypothétique du fonctionnement de régulation de l'activité de la protéine PTOX 53

Figure 33| Relevé bathymétrique de distribution verticale de la température sur un transect latitudinal en Atlantique, de 60°N à 40°S, de juin 1988 à avril 1989 56

Figure 34| Schématisation des différents angles d'incidence des radiations solaires sur la planète et modélisation de la température de surface des océans 57

Figure 35| Carte mondiale des upwellings. 58

Figure 36| A. Taux de croissance (jour^{-1}) en fonction de l'intensité lumineuse de croissance, mesurés en laboratoire, chez deux souches de *Prochlorococcus* représentatives des deux écotypes de lumière High Light (HL) et Low Light (LL) 60

Figure 37| A. *Preferenda* thermiques des écotypes de *Prochlorococcus* HLI (High Ligh I) et HLII (High Light II) mesurés en laboratoire. B. Distribution des deux écotypes HLI et HLII le long d'un transect latitudinal en Atlantique. 61

Figure 38| Position phylogénétique des types pigmentaires de *Synechococcus* marins. 63

Figure 39| Représentations des niches environnementales des ESTUs (Ecologically Significant Taxonomic Units) majeurs de *Synechococcus* dans les eaux de surface. 64

Figure 40| Distribution des clades I, II, III et IV de *Synechococcus* marins, qui dominent généralement les communautés naturelles. 65

Figure 41| Analyse phylogénétique par maximum de vraisemblance du gène *petB* de 74 isolats de *Synechococcus* marins en culture, montrant les différents clades du sous-cluster 5.1, associés aux températures d'isolement des souches, d'après les données satellite. 66

Figure 42| A. Localisation des sites d'isolement et B. Taux de croissance en fonction de la température de croissance pour six souches de *Synechococcus* marins utilisées dans l'étude de Pittera *et al.* (2014) : tropicales (triangles), tempérées (carrés) et hautes latitudes (ronds). 67

Figure 43| Variations de la densité cellulaire (A), du couplage des phycobiliprotéines (B ; spectropfluorimétrie), de l'efficacité du photosystème II (C ; fluorimétrie PAM) et du contenu en protéine D1 par protéines totales (D ; immunoblot), dans des cultures de 6 souches de *Synechococcus* marins, isolées le long d'un gradient latitudinal de température. 68

Figure 44| Adaptation du phycobilisome chez 6 souches de *Synechococcus* marins à différentes niches thermiques. (A) Température maximale de rupture de la fonction du phycobilisome chez différentes souches. (B) Température de demi-dénaturation des phycobiliprotéines du bras des phycobilisomes chez différentes souches. (C) Modèles structuraux (*in silico*) de phycocyanine montrant en rouge une des deux mutations (sous-unité β-42 : Asn -> ser) prédites pour jouer un rôle dans l'augmentation de la flexibilité de cette phycobiliprotéine chez les écotypes d'environnements froids. 69

Figure 45| A. Représentation de la bicouche lipidique des membranes biologiques, avec les protéines et les sucres qui y sont insérés et B. Exemple de structure d'un lipide membranaire (phosphatidylcholine). 71

Figure 46| Organisation de la paroi d'une bactérie Gram négatif. 72

Figure 47| Photographie en microscopie électronique à transmission d'une cellule de *Synechococcus* sp. WH7803 cultivée à 30 µmol photons m^{-2} s^{-1}. 73

Figure 48| Structure moléculaire des quatre principaux lipides membranaires chez les cyanobactéries : Monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), Digalactosyldiacylglycérol (DGDG), Sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), Phosphatidylglycérol (PG) 74

Figure 49| Voies de biosynthèse des lipides membranaires chez les cyanobactéries. 75

Figure 50| Voies de biosynthèse des acides gras. Les réactions cycliques ajoutent deux carbones durant la synthèse de l'acide gras. 76

Figure 51| Degrés d'insaturation des chaînes d'acides gras chez *Synechocystis* sp. PCC 6803.. 78

Figure 52| Classification des modes de désaturation des acides gras chez les cyanobactéries. 79

Figure 53| Arbre phylogénétique (Maximum Likelihood) des séquences protéiques de lipide-désaturases cyanobactériennes.. 81

Figure 54| Représentation de l'influence de la température sur la fluidité de la membrane lipidique 83

Figure 55| (A) Illustration d'un hopanoïde (2-méthylhopanoïde) et (B) de son insertion dans les membranes sur la fluidité des membranes.. 83

Figure 56|Variations relative (%) des acides gras estérifiés sur les positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol des quatre lipides membranaires de la souche *Synechococcus* sp. WH7803 acclimatée à une gamme de température de croissance. 87

Figure 57| Abondance relative des clades de *Synechococcus* en fonction de la température de l'eau de mer. 88

Figure 58| Localisation des sites d'isolement des souches de *Synechococcus* sélectionnées pour le projet SAMOSA. 96

Figure 59| Principe de détection du signal lumineux en cytométrie en flux. 98

Figure 60| Cytogramme représentant les paramètres mesurés par le cytomètre. 99

Figure 61| Mesure du rendement quantique du PSII (F_V/F_M) par fluorimétrie à amplitude pulsée et modulée. 101

Figure 62| Principe des analyses pigmentaires en chromatographie Liquide Haute Performance. 102

Figure 63| Chromatogramme typique de la souche WH7803 (absorption à 440 nm) cultivée à 18°C sous 20 µmol photons m^{-2} s^{-1}. 103

Figure 64| Illustration d'une extraction par séparation de phase selon la méthode de modifiée de Bligh and Dyer (1959). 105

Figure 65| Schématisation de la plaque de TLC, des sens de migrations des lipides majoritaires des membranes et de leurs positions finales sur la plaque après séparation. 106

Figure 66| Exemple de chromatogramme obtenu après la LC/MS. Ici l'exemple du MGDG 109

Figure 67| Variations du taux de croissance (A), du rendement quantique du PSII (B), et des rapports de contenu en pigments membranaires (C, D, E) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. 119

Figure 68| Photographie d'une TLC réalisée sur un extrait lipidique de la souche WH8102 à 29°C. 120

Figure 69| Variations du rapport molaire C14:C16 indiquant la longueur moyenne des espèces d'acides gras estérifiés en position *sn*-1 du monogalactosyldiacylglycérol (A, MGDG) et du digalactosyldiacylglycérol (B, DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), B107 (vert), WH8102 (orange) et A15-62 (rouge), acclimatés de 10°C à 30°C. 122

Figure 70| Variation du niveau de monoinsaturation, exprimé par le rapport molaire de C16:1 : C16:0 (A, C et E) et C14:1 : C14:0 (B, D et F), des acides gras estérifiés à la position *sn*-1 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A et B), digalactosyldiacylglycérol (DGDG, C et D) et sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG, E et F) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. 123

Figure 71| Variation du niveau de monoinsaturation, exprimé par le rapport molaire C14:1 : C14:0 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A) et du digalactosyldiacylglycérol (DGDG, B) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. 124

Figure 72| Variations du niveau de monoinsaturation, exprimé par (A) le rapport molaire C16:1 : C16:0 et (B) le rapport molaire C14:1 : C14:0 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. 125

Figure 73| Variation du taux de double désaturation, exprimé par le rapport molaire C16:2 : C16:1 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A) et du digalactosyldiacylglycérol (DGDG, B) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. 126

Figure 74| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. 128

Figure 75| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. 129

Figure 76| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. 130

Figure 77| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. 131

Figure 78| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. 132

Figure 79| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. 133

Figure 80| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. 134

Figure 81| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), WH8102 (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. 135

Figure 82| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. 136

Figure 83| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. 137

Figure 84| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. 138

Figure 85| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. 139

Figure 86| Localisation des sites d'isolement des souches de *Synechococcus* des clades I et IV, à trois latitudes différentes en Manche-Mer du Nord. 152

Figure 87| Stations de prélèvements durant la campagne *circum* planétaire TARA Ocean 2009-2013. Cette campagne océanographique a prélevé des échantillons de phytoplancton dans un grand nombre de provinces océanique différentes. 156

Figure 88| Abondance relative des gènes de désaturase en Δ9 *des*C3 (A) et *des*C4 (B) et en Δ12 *des*A2 (C) et *des*A3 (D), en fonction de la température de l'eau aux stations de prélèvement de l'expédition *TARA Océan* 2009-2013, pour les quatre clades I, II, III et IV correspondant aux thermotypes de *Synechococcus*. 157

***

Tableau 1| Classification des différents groupes et sous-groupes morphologiques de cyanobactéries 28

Tableau 2| Classification des cyanobactéries selon leur composition en acide gras majoritaires 80

Tableau 3| Profils phylétiques des gènes de lipide-désaturases dans 53 génomes de *Synechococcus* marins et *Cyanobium*, appartenant aux 3 sub-clusters 5.1 (313 clades différents), 5.2 et 5.3.....82

Tableau 4| Production d'hydrocarbures par plusieurs souches de picocyanobactéries marines des genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*.. 84

Tableau 5| Position phylogénétique, site d'isolement et température moyenne de l'eau de mer au site d'isolement pour les quatre souches de *Synechococcus* utilisées pour cette étude. 96

Tableau 6| Prélèvements effectués dans les cultures (tripliquats) de *Synechococcus* spp. MVIR-18-1, A15-62, WH8102 et BL107, acclimatée à 6 températures différentes, en vue des différentes analyses réalisées. 97

Tableau 7| Proportions dynamiques des différents solvants utilisés (d'après Zapata *et al.* 2000).....103

Tableau 8| Tableau récapitulatif des volumes de solvants à verser dans la cuve de migration des TLC 107

Tableau 9| Valeurs limites et optimales des *preferenda* thermiques de croissance des souches de *Synechococcus* utilisées dans cette étude : *Synechococcus* spp. MVIR-18-1 (clade I), A15-62 (clade II), WH8102 (clade III) et BL107 (clade IV). 117

Tableau 10| Gènes de désaturases présents dans les génomes des quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C 145

***

Annexe 1| Pittera *et al.* 2018.....183

Annexe 2| Protocole de préparation du milieu de culture PCR-S11 203

Annexe 3| Spectres d'émission des rampes de LEDs utilisées. 205

Annexe 4| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. MVIR-18-1 acclimaté entre 10 et 25°C.....207

Annexe 5| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. A15-62 acclimaté entre 16 et 30°C.....209

Annexe 6| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. WH8102 acclimaté entre 16 et 30°C. 211

Annexe 7| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. BL107 acclimaté entre 14 et 28°C. 213

Annexe 8| Détail du projet METALIC 215

Introduction



Station Biologique de Roscoff, Vue sur l'aquarium historique

Préambule

1. De la biologie marine à l'océanographie biologique[1]

Dès la Préhistoire, L'Homme entra en interaction avec les mers et les océans. Il les utilisa d'abord comme réservoir alimentaire, puis s'en servît comme canal de transport. La navigation maritime se développa alors jusqu'au XVIII^{ème} siècle, et c'est donc tout naturellement que les études du milieu marin commencèrent par l'approfondissement des connaissances physiques et météorologiques, afin de mieux apprivoiser cet environnement. Un des premiers scientifiques qui explora réellement les mers du globe est le Capitaine anglais James Cook (1728-1779, Figure 1A) connu pour sa grande contribution aux collections cartographiques de son époque. Dans le prisme de la compétition entre les royaumes de France et d'Angleterre, Louis XVI chargea Jean-François Galaup de La Pérouse (1741-1788, Figure 1B) d'expéditions scientifiques ayant pour but de compléter celles entreprises par Cook.



Figure 1| Deux grands scientifiques du XVIII^{è} siècle qui ont contribué aux premières découvertes océanographiques. A. James Cook (1728-1779), et **B.** Jean-François Galaup de La Pérouse (1741-1788).

Par la suite, le courant naturaliste du XIX^{ème} siècle permit l'émergence de la **biologie marine**. C'est ainsi que commença la description d'espèces nouvelles, notamment avec les explorations entreprises par Charles Darwin (1809-1882) et Ernst Haeckel (1834-1919). Ce dernier, philosophe et biologiste allemand, contribua largement à la description de nombreuses espèces marines, notamment planctoniques (Figure 2).

[1] D'après Glémarec (2007), Truchot (2001) et Toulmond (2011)

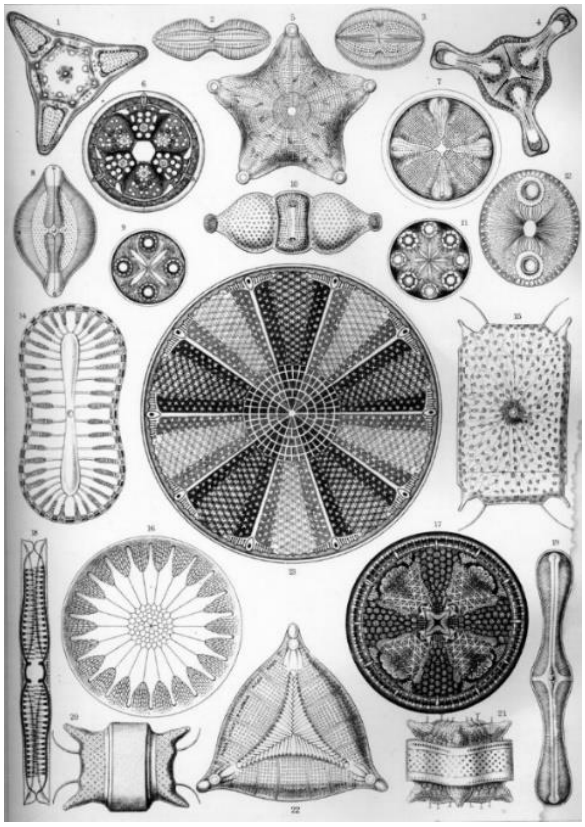


Figure 2| Planche de E. Haeckel illustrant l'embranchement des diatomées

Avec le rayonnement, dès 1859, des stations marines sur les littoraux, les ressources biologiques marines devinrent de plus en plus accessibles. Aux études purement descriptives s'ajoutèrent alors des approches fonctionnelles et énergétiques, accordant plus de place à l'écologie (*i.e.* la science qui étudie les relations entre les êtres vivants et leur environnement) et l'écophysiologie (*i.e.* la science qui étudie les réponses comportementales et physiologiques des organismes à leur environnement). Cette science qui étudie et décrit les océans peut ainsi être définie comme l'**océanographie biologique,** provenant de la francisation du néologisme formé en 1854 en Autriche du mot allemand *Ozean* et du grec ancien γραφία, *graphía*.

Dans les années 1950, les premières analyses génétiques sont menées et appliquées à l'océanographie. Depuis les années 2010, les techniques de pointe telles que la spectrométrie de masse et les analyses génétiques haut-débit ont nécessité le développement de nouveaux outils informatiques capables de traiter les quantités importantes de données biologiques générées par ces analyses. Un exemple probant est celui des études de métagénomique qui ont découlé des expéditions scientifiques *circum* planétaires telles que celles menées sur la goélette *Tara* (Bork *et al.* 2015 ; De Vargas *et al.* 2015). En séquençant l'intégralité de l'ADN présent dans un échantillon d'eau de mer, ces études ont permis un accès à la diversité génétique complète d'un échantillon et

peuvent également donner un aperçu de son potentiel fonctionnel. C'est ainsi que depuis le début des années 2000, la composante **bio-informatique**, discipline constituée par l'ensemble des concepts et des techniques nécessaires à l'interprétation informatique de l'information biologique, occupe une place de plus en plus importante dans l'océanographie biologique.

Tous les outils développés et utilisés pour les activités scientifiques relatives à l'étude et à l'exploitation du milieu marin peuvent se regrouper au sein d'un même domaine appelé l'**océanologie**.

2. De l'importance des organismes microscopiques

Différents systèmes de classification des organismes marins sont utilisés par les océanographes. Une des plus courantes les classe selon leur niche écologique : ainsi, on distingue couramment le **benthos**, du grec *βένθος* (profondeur) qui regroupe tous les organismes vivant à proximité, sur ou dans les sédiments marins, et le **pélagos**, du grec *πέλαγος* (haute mer) qui regroupe tous les organismes vivant dans la colonne d'eau. Dans ce dernier, on différencie le **necton**, du grec *νη'χω* (nager), rassemblant l'ensemble des êtres vivants dont la nage leur permet de s'affranchir du courant et le **plancton**, du grec *πλαγκτός* (errant, instable) dont les organismes « errent » au gré du courant. C'est Victor Hensen (1835-1924), physiologiste, médecin et biologiste marin allemand, qui définit la première fois le plancton en 1887, soit quelques années après sa découverte.

Au sein du compartiment planctonique, il existe une multitude d'organismes de taille, de couleurs et de formes très différentes (Figure 3). Si on rapporte la gamme de taille des organismes planctoniques à l'échelle de l'être humain, elle irait de la taille d'une souris, pour les organismes les plus petits, à celle de la Tour Eiffel, pour les plus grands. Toutefois, en termes de diversité, la majeure partie des organismes appartenant au plancton est microscopique et ne dépasse pas celle d'une tête d'épingle, mais on y retrouve aussi des organismes beaucoup plus grands tels que les méduses.



Figure 3| Représentation de la diversité du plancton (Sardet 2013)

Une conception aujourd'hui révolue consistait à différencier deux groupes au sein du plancton : le zooplancton (du grec *zoo*, « animal ») et le phytoplancton (du grec *phyton*, « plante »). Le zooplancton regroupe classiquement tous les organismes planctoniques animaux. Ils sont hétérotrophes, et se nourrissent donc de matière organique vivante. Le phytoplancton regroupe les organismes planctoniques autotrophes, capables de réaliser la photosynthèse pour subvenir à leurs propres besoins énergétiques. Aujourd'hui, les progrès en taxonomie et en génétique ont considérablement fait évoluer la classification et ont dévoilé une diversité phénoménale d'organismes, en particulier microscopiques. Parmi ceux-ci, on considère aujourd'hui le plancton microscopique comme rassemblant les bactéries, les archeae, les virus et une multitude d'organismes eucaryotes (champignons, protistes) appartenant à des lignées très diverses. La plupart des organismes planctoniques microscopiques eucaryotes appartiennent au groupe des protistes, défini par Haeckel en 1866 à partir du grec *protestos*, superlatif de *protos*, « premier ». Les protistes sont actuellement définis par exclusion : ce sont tous les organismes n'appartenant ni aux champignons, ni aux plantes, ni aux animaux. Longtemps oubliés, ils sont aujourd'hui le sujet de nombreuses recherches en océanographie et leurs rôles écologiques notamment dans les réseaux trophiques marins n'est plus à prouver.

3. Zoom sur le phytoplancton marin

Les organismes sont souvent catégorisés par classes de taille, qui reflètent les mailles de filets ou de filtres utilisés pour les collecter. On distingue ainsi quatre classes principales : i) le picophytoplancton (0,2-2 µm), qui rassemble par exemple les picocyanobactéries *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, et de nombreux picoeucaryotes photosynthétiques telles que les petites algues vertes comme *Micromonas* et *Ostreococcus*, ii) le nanophytoplancton (2-20 µm) avec par exemple les cyanobactéries filamenteuses *Trichodesmium* et *Spirulina*, les haptophytes et certains petits cryptophytes, iii) le microphytoplancton (20-200 µm) dont les représentants les plus connus sont les diatomées et les dinoflagellés et enfin iv) le mésophytoplancton (0,2-200 mm), qui comprend les plus grosses cellules de diatomées et de dinoflagellés tels que les genres *Coscinodiscus* et *Ceratochoris* (Sieburth *et al.* 1978, Figure 4).

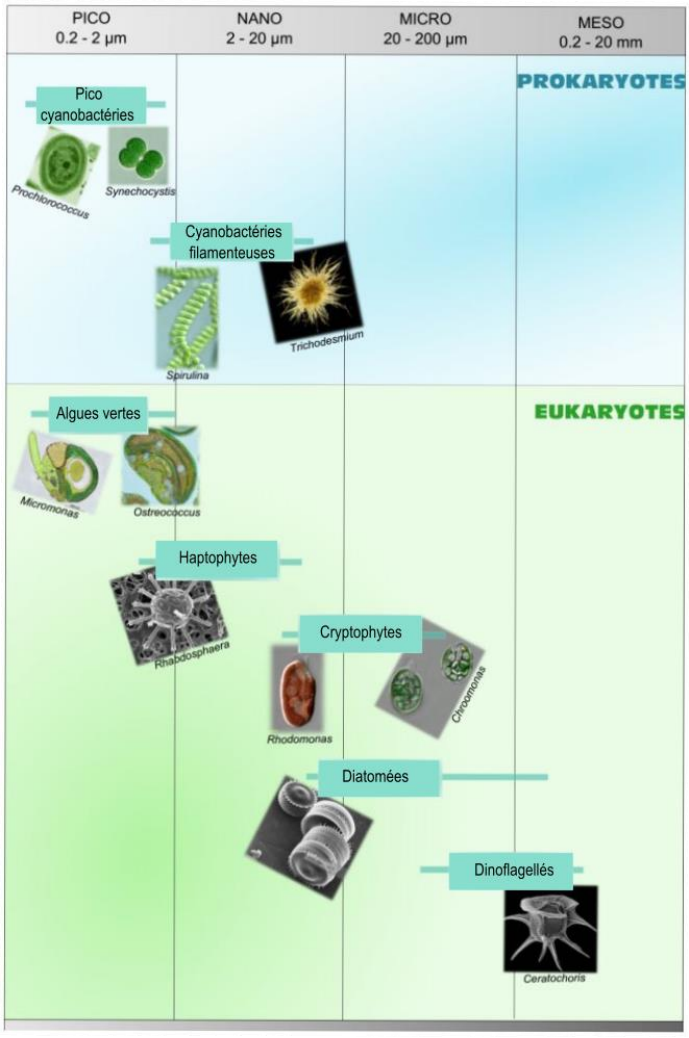


Figure 4| Classification des différentes classes de tailles du phytoplancton (modifié de Sieburth *et al.* 1978, d'après Pittera 2015)

3.1. Les rôles biologiques et écologiques du phytoplancton

Comme écrit précédemment, le phytoplancton exploite l'énergie lumineuse solaire grâce à la photosynthèse. Il existe plusieurs types de photosynthèse, mais de nos jours, la photosynthèse oxygénique est dominante sur Terre. Ce processus permet aux organismes photosynthétiques de convertir la lumière en énergie chimique de liaison, afin d'incorporer du dioxyde de carbone dans leurs molécules de sucres, ce qui engendre la libération de dioxygène. Par conséquent, le phytoplancton n'est abondant que dans la zone photique des océans (où la lumière pénètre).

Bien qu'il ne représente que 1% de la biomasse photosynthétique mondiale, il est responsable de plus de 45% de la production primaire nette globale (Field *et al.* 1998). Il est donc un acteur primordial des cycles biogéochimiques du carbone et de l'oxygène sur Terre. De plus, le phytoplancton constitue l'élément basal principal des réseaux trophiques marins. En effet, l'essentiel de la production primaire nette marine globale qu'il produit alimente les étages supérieurs du réseau (Figure 5). Pour l'anecdote, on estime qu'il faut une tonne de phytoplancton pour obtenir 100g de thon !

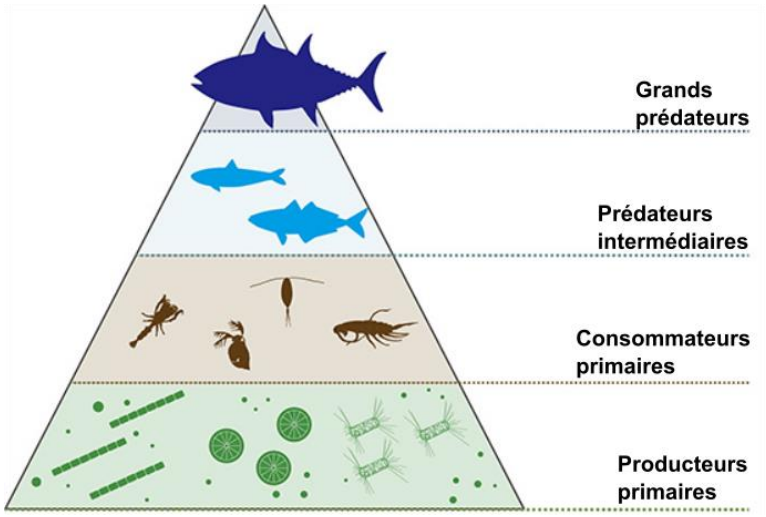


Figure 5| Réseau trophique pyramidal en milieu marin. La production primaire nette globale marine alimente les étages supérieurs, des consommateurs primaires (zooplancton), aux grands prédateurs (grands poissons).

Le cycle du carbone dans les océans comprend un certain nombre de processus, dont plusieurs sont réalisés par les microorganismes, notamment phytoplanctoniques (Figure 6). Ces derniers assurent en effet la conversion du carbone inorganique (CO_2) en carbone organique ①, ce qui constitue une porte d'entrée du carbone organique en milieu marin. Le phytoplancton est associé à la libération de quantités importantes de matière organique dissoute (DOM, qui comprend notamment le carbone organique dissous (COD), l'azote organique dissous (DON) et le

phosphore organique dissous (DOP)) et de matière organique particulaire (POM, qui comprend le carbone organique particulaire (POC), l'azote organique particulaire (PON) et le phosphore organique particulaire (POP)), par excrétion et de par la mort cellulaire ②.

Une partie significative du carbone fixé par le phytoplancton est consommée par le zooplancton brouteur ③, qui alimentera les maillons supérieurs des chaines trophiques. Toute cette matière organique dissoute et particulaire subit le processus de minéralisation (*i.e.* la libération d'éléments oxydés tels que les nitrates, les phosphates et le CO_2 *via* la respiration). Les bactéries hétérotrophes et les champignons marins sont des acteurs primordiaux de la minéralisation des molécules organiques en formes inorganiques, qui sont ensuite biodisponibles pour le phytoplancton, processus mieux connu sous le nom de boucle microbienne ④.

Un des rôles biogéochimiques importants les microorganismes marins, notamment le phytoplancton, est la séquestration du carbone atmosphérique dans les profondeurs océaniques. Ce processus, appelé couramment « pompe biologique à carbone » ⑤⑥, est essentiel dans la régulation des teneurs atmosphériques en gaz à effets de serre, et donc du climat. Il fonctionne grâce à la gravité, qui permet aux cellules mortes et autres particules organiques de sédimenter dans les fonds marins, de concert avec la pompe physique à carbone, qui fonctionne grâce aux courants marins profonds. Enfin, les nombreux virus marins ⑦ participent activement à la libération directe de matière organique dissoute et particulaire dans le milieu, depuis tous les niveaux trophiques (Buchan *et al.* 2014).

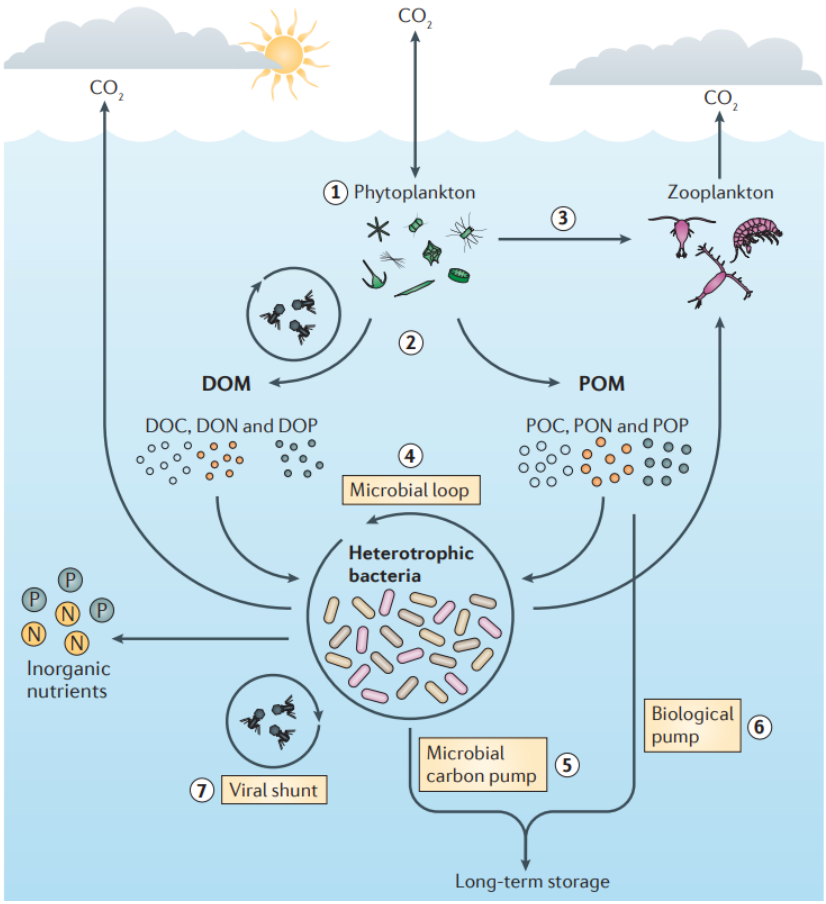


Figure 6| Cycle de la matière organique en milieu pélagique. DOM : Matière organique dissoute (DOC, DON, DOP : Carbone, Azote et Phosphate organiques dissouts). POM : Matière organique particulaire (POC, PON, POP : Carbone, Azote et Phosphate organiques particulaires) (modifié de Buchan *et al.* 2014).

3.2. Quelques enjeux sociétaux de la recherche sur le phytoplancton

Le premier secteur auquel on fait référence lorsqu'on évoque la recherche appliquée sur le phytoplancton marin concerne le milieu de l'industrie. Depuis une quinzaine d'années, différents acteurs de la recherche appliquée ont commencé d'étudier et d'exploiter le potentiel industriel des organismes phytoplanctoniques. Un des exemples les plus remarquables est la synthèse de bio-carburants, développés à partir des lipides de microalgues telles que, par exemple, le genre *Nannochloropsis*.

La production d'hydrogène par les cyanobactéries est aussi un champ d'étude en pleine expansion.

Certains travaux se sont penchés sur la production d'énergie lumineuse biologique, en utilisant les propriétés bioluminescentes de certaines espèces planctoniques comme l'espèce

Noctiluca scintillans (Figure 7). L'utilisation du gène de bioluminescence de ces espèces, utilisé dans les cultures de bactéries adaptées, permettrait d'éclairer vitrines et lampadaires des centres villes.

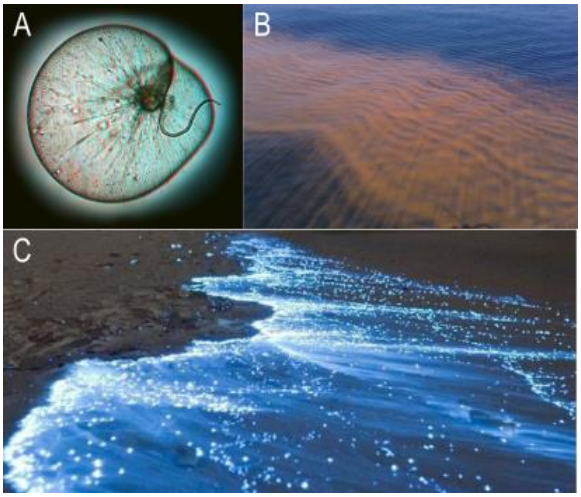


Figure 7| Exemple d'une espèce phytoplanctonique bioluminescente, ici le Dinophyte *Noctiluca scintillans.* **A.** Photographie au microscope de la cellule **B.** Efflorescence de *N. scintillans* de jour et **C.** Illustration de la bioluminescence des cellules de nuit.

La très grande diversité d'organismes phytoplanctoniques constitue une ressource largement inexploitée pour les milieux médicaux, paramédicaux et de l'industrie agroalimentaire. Un des exemples les plus courants concerne les compléments alimentaires. Actuellement, plusieurs entreprises développent les comprimés et autres poudres à base de Spiruline ou de Chlorelle. Beaucoup de produits pharmaceutiques à base de molécules extraites du phytoplancton marin émergent également aujourd'hui.

Une centaine d'espèces phytoplanctoniques est considérée comme nuisible, la plupart d'entre elles secrétant des phycotoxines, qui peuvent être mortelles pour la faune marine (notamment les organismes cultivés en aquaculture) et quelques fois pour l'homme. Parmi les organismes phytoplanctoniques toxiques les plus connus, on peut citer les genres de dinoflagellés *Alexandrium* (Figure 8), *Dinophysis* et les diatomées du genre *Pseudo-nitzschia*. Devant ce risque sanitaire, il existe des réseaux chargés de la surveillance des communautés phytoplanctoniques sur les côtes, de la toxicité du milieu et de la prévention des publics concernés, que ce soit pour les sites de baignades ou les zones conchylicoles.

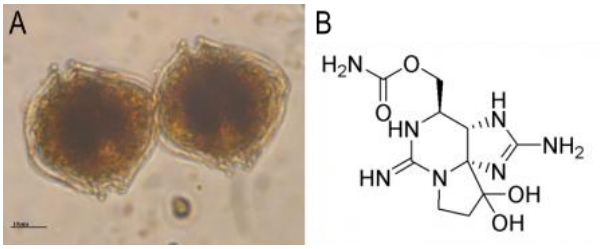


Figure 8| Exemple d'une espèce phytoplanctonique toxique, ici *Alexandrium sp*. A. Photographie au microscope d'une cellule d'*Alexandrium sp.* (Échelle : 10µm) et **B.** Molécule de saxitoxine, neurotoxine synthétisée par *Alexandrium sp.*, responsable de paralysies.

Il n'est pas nécessaire de rappeler que depuis le début du XX^{ème} siècle s'opère un changement global des conditions climatiques de notre Planète. L'océan est tout particulièrement sensible à ces changements qui se traduisent notamment par une augmentation de la température des eaux de surface, une augmentation du niveau de la mer, du flux incident de rayons ultraviolets ou encore de la surface des zones oligotrophes. Il est évident que ces changements environnementaux, à court comme à long terme, vont également impacter les communautés qui peuplent les océans, notamment le phytoplancton. De nombreux laboratoires étudient les impacts que pourraient avoir de tels changements. Les cyanobactéries marines sont d'ailleurs parmi les organismes les plus pertinents pour évaluer cet impact du fait de leur ubiquité et de leur abondance dans les océans mais également des outils océanologiques qui permettent d'étudier ces impacts à toutes les échelles d'organisation, depuis le gène jusqu'à l'océan global. Il existe ainsi tout un secteur actif de recherche sur ces thématiques, qui contribue à enrichir nos connaissances scientifiques sur la diversité, la physiologie et le rôle écosystémique du phytoplancton marin.

Partie I.
La diversité des cyanobactéries

I.1. Origine et évolution des cyanobactéries

I.1.1 Les cyanobactéries et la complexification de la vie sur Terre

Les cyanobactéries sont les organismes photosynthétiques oxygéniques les plus anciens que l'on connaisse sur Terre (Bekker *et al.* 2004). La datation de l'émergence de cette radiation n'est pas bien définie, mais selon les marqueurs moléculaires utilisés, leur apparition daterait d'entre 3,5 milliards d'années (Schopf 2000) et 2,7 milliards d'années (Blank and Sánchez-Baracaldo 2010), au milieu de l'Archéen. Ce sont à cette époque des organismes procaryotes planctoniques qui forment un groupe monophylétique au sein du domaine des bactéries, *i.e.* un groupe d'organismes formant une radiation incluant la totalité des descendants d'un ancêtre commun.

Aujourd'hui, il est reconnu que les cyanobactéries ont joué un rôle important dans l'évolution de la géochimie de notre planète (Holland 2018). En effet, jusqu'au début du Protérozoïque, il y a 2,5 milliards d'années, l'atmosphère terrestre ne contenait pas d'oxygène et était composée en majeure partie de dioxyde de carbone, d'azote (Figure 9) et quelques traces de méthane et d'ammoniac.

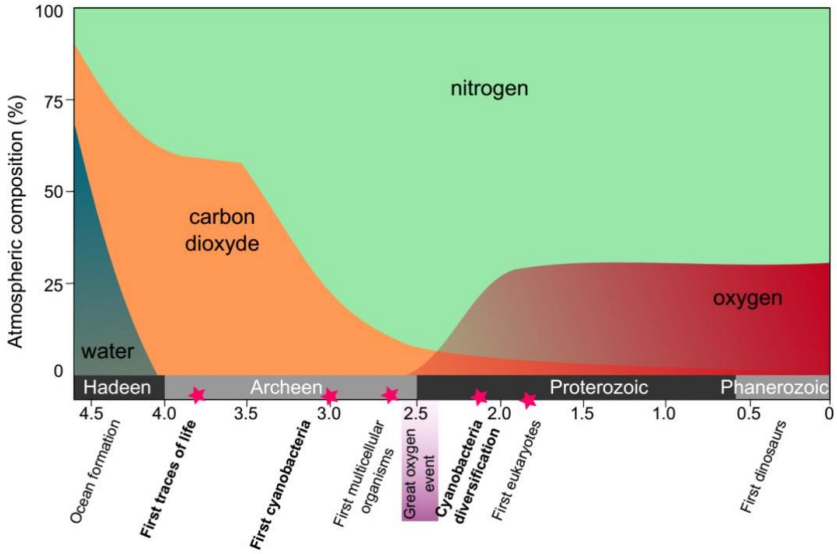


Figure 9| Evolution de la composition atmosphérique de la Terre au fil des grands évènements biologiques et chimiques associés. Echelle de temps en milliards d'années (Pittera 2015)

Au début du Protérozoïque un évènement appelé la Grande Oxydation, dans lequel les cyanobactéries semblent avoir joué un rôle essentiel, a conduit l'atmosphère à s'enrichir progressivement en oxygène jusqu'à en être saturée il y a entre 2,32 (Bekker *et al.* 2004) et 2,5 milliards d'années (Anbar *et al.* 2007) selon les auteurs. Après la naissance du processus de photosynthèse oxygénique, l'oxygène dégagé par les cyanobactéries était absorbé par les océans et les fonds marins. Il entraîna l'oxydation du fer ferreux (Fe^{2+}) contenu dans l'eau en fer ferrique (Fe^{3+}) et sa précipitation en hématite (Fe_2O_3) ou en magnétite (Fe_3O_4). Avec l'épuisement du fer dissous dans les océans, l'oxygène libéré a alors pu rester dans l'atmosphère terrestre, tout d'abord absorbé par les terres. Une fois les puits d'oxygène saturés, entre 2,3 et 2,1 milliards d'années, sa concentration a considérablement augmenté dans l'atmosphère, jusqu'à l'en saturer également il y a environ 1,8 milliards d'années. Cette augmentation exponentielle est appelée l'évènement de Lomagundi. Bekker et collaborateurs, en 2004, ont estimé que la concentration en oxygène au début de cette phase était 10 000 fois plus faible que celle que nous connaissons aujourd'hui. Une conséquence très importante de cette accumulation de dioxygène dans l'atmosphère, en grande partie émis par les cyanobactéries, a été la formation d'une couche d'ozone (0_3) stratosphérique filtrant une grande partie des rayonnements UV incidents, ce qui a joué un rôle prépondérant dans la colonisation des écosystèmes terrestres par la vie. L'Ere du Protérozoïque est considérée comme « L'Age d'or des Cyanobactéries ».

Outre ces phénomènes géochimiques, les cyanobactéries seraient, selon la théorie endosymbiotique, à l'origine des chloroplastes des organismes eucaryotes apparus il y a environ 1,8 milliards d'années (Tomitani 2006). La ressemblance entre un chloroplaste de cellule eucaryote et une cyanobactérie est en effet assez frappante de par un certain nombre de caractères tels que la structure de l'ADN et les gènes présents, la semi-autonomie de l'organite, la capacité à produire ses propres protéines grâce à des ribosomes de type bactérien, des membranes photosynthétiques à la composition typiquement cyanobactérienne, *etc*. Cette théorie propose que des cyanobactéries aient été ingérées par des cellules primitives et vivraient maintenant à l'intérieur d'elles en symbiose obligatoire. Ce phénomène se serait reproduit plusieurs fois, donnant lieu à des chloroplastes entourés par de multiples membranes, traces des différents processus d'endosymbioses primaires, secondaires, tertiaires, *etc*. On pense ainsi que les cyanobactéries sont à l'origine de la complexification de la vie végétale eucaryote au cours de l'évolution (Figure 10).

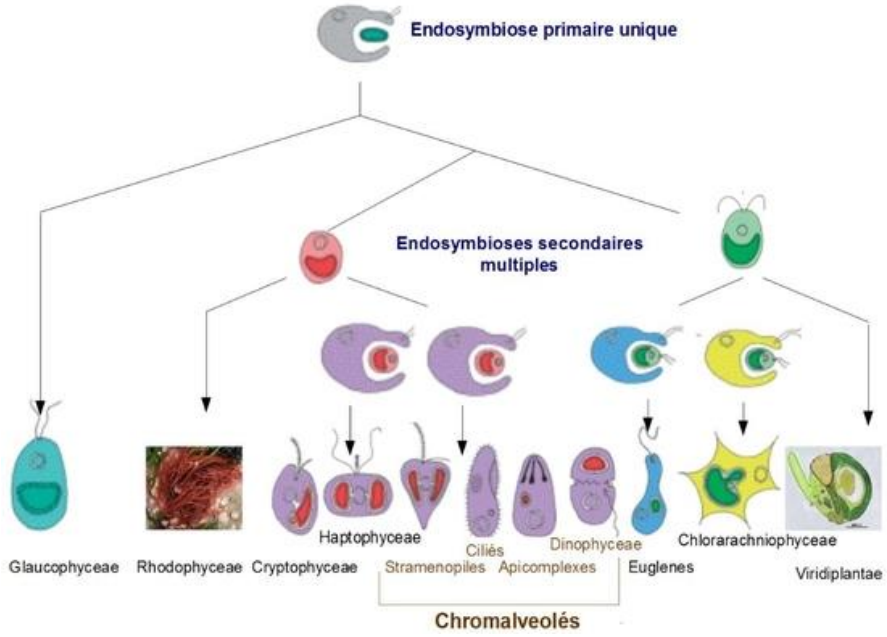


Figure 10| Schématisation des processus d'endosymbioses. Une lignée cellulaire ancestrale effectue l'endosymbiose primaire. Après l'établissement d'un réseau métabolique stable et après pertes et transferts de gènes vers le noyau eucaryote, la cyanobactérie perd son autonomie et devient un organite de la cellule eucaryote. Cette lignée ancestrale photosynthétique connaît plusieurs événements de divergence. La première a lieu avec une lignée qui donnera lieu aux *Glaucophyta* actuels. Une autre lignée ancestrale aux algues rouges (*Rhodophyta*), algues vertes et aux plantes vasculaires (*Viridiplantae*). Au sein des *Rhodophyceae*, plusieurs lignées apparaissent. Certaines sont phagocytées au cours d'un événement d'endosymbiose secondaire. Ces lignées mèneront alors aux alvéolés et straménopiles actuels, ainsi qu'aux haptophytes et cryptophytes. De la même manière, plusieurs lignées d'algues vertes apparaissent et au moins une de ces lignées connait également cet événement d'endosymbiose secondaire. Ces lignées mèneront alors aux euglènes et chlorarachniophytes actuels. (source : http://microbio-insolites-extremes.kazeo.com/histoires-evolutives-du-chloroplaste-c28016718).

I.1.2 Un groupe d'une grande diversité

Les premières cyanobactéries étaient probablement unicellulaires, de petite taille, et incapables de former des biofilms (Blank and Sánchez-Baracaldo 2010). Jusqu'à il y a 2,4 milliard d'années, on pense qu'elles étaient restreintes aux écosystèmes dulcicoles et/ou côtiers mais depuis, ce groupe s'est extrêmement diversifié et on distingue aujourd'hui de grandes différences de styles de vie et de morphologies, associées à la conquête d'une diversité considérable de niches écologiques. Sur la base de ces différences, Rippka et collaborateurs (1979) ont établi une classification des cyanobactéries qui permet de diviser ce groupe en 5 sous-groupes morphologiques (Tableau 1). Les sous-catégories I et II regroupent les cyanobactéries unicellulaires, avec le sous-groupe I rassemblant les cyanobactéries qui se reproduisent par division binaire (*Synechococcus*, *Synechocystis*) ou par bourgeonnement (*Chamaesiphon*), et le sous-groupe II rassemblant les cyanobactéries qui se reproduisent par la division rapide d'une cellule végétative « mère » en petite cellules sphériques appelées « baeocystes » (*Pleurocapsa*). Les sous-groupes III

à V incluent les cyanobactéries qui se développent en trichomes (les cyanobactéries filamenteuses) avec des niveaux de complexité différents. La reproduction chez ces organismes se fait grâce à la rupture du trichome et à la formation de petits filaments mobiles appelés « hormogonies ». Alors que les cyanobactéries du sous-groupe III se développent en filaments unisériés (une seule file de cellules, par opposition à multisérié) unidirectionnels sans spécialisation de cellules (*Phormidium*), les individus des sous-groupes IV et V ont la capacité de former des cellules différenciées telles que des hétérocystes, spécialisés dans la fixation d'azote d'origine atmosphérique (*Nostoc*). Les individus des sous-groupes IV et V sont les seuls qui ont la capacité de développer des filaments multisériés (Schirrmeister *et al.* 2015).

Tableau 1| Classification des différents groupes et sous-groupes morphologiques de cyanobactéries (Rippka *et al.* 1979)

<table>
<tr><td rowspan="2">Unicellulaire : cellules uniques ou formant des agrégats coloniaux maintenus ensemble par des couches de paroi cellulaire externes supplémentaires</td><td colspan="2">Reproduction par division binaire ou par bourgeonnement</td><td>Sous-groupe I</td></tr>
<tr><td colspan="2">Reproduction par fission multiple donnant naissance à de petites cellules filles (bæocytes), ou à la division multiple et à la division binaire</td><td>Sous-groupe II</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Filamenteux : un trichome qui se développe par division cellulaire intercalaire</td><td rowspan="3">Reproduction par rupture de trichome aléatoire, par formation d'hormogonie et (Sections IV et V seulement) parfois par germination d'akinetes</td><td>Le trichome est toujours composé uniquement de cellules végétales</td><td>Division sur un seul plan Sous-groupe III</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Le trichome contient des hétérocystes; certains produisent également des akinètes</td><td>Division sur un seul plan Sous-groupe IV</td></tr>
<tr><td>Division sur plusieurs plans Sous-groupe V</td></tr>
</table>

La diversité actuelle des cyanobactéries est considérable. On les retrouve dans les sols, les milieux estuariens et marins, dans tous les systèmes d'eau douce, dans les déserts, aux pôles, dans certains minéraux (cyanobactéries endolithiques), en symbiose avec des organismes eucaryotes, *etc*, et peuvent adopter des organisations plus ou moins complexes (Rippka *et al.* 1979 ; Figure 11).

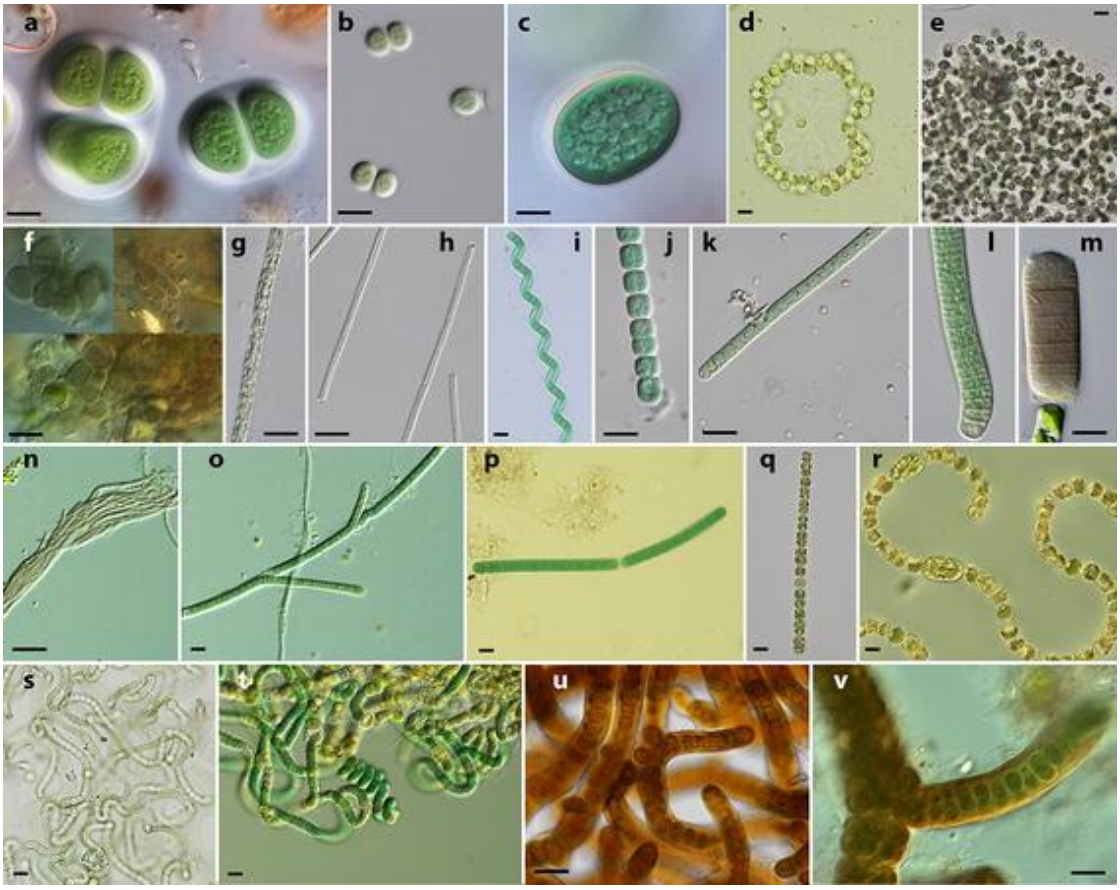


Figure 11| Illustration de la diversité morphologique des cyanobactéries. Classification (de I à V selon Rippka *et al.* 1979, Tableau 1). **I.** Chroococcales: **a** *Chroococcus subnudus*, **b** *Ch. limneticus*, **c** *Cyanothece aeruginosa*, **d** *Snowella litoralis*, **e** *Microcystis aeruginosa.* **II**. Pleurocapsales: **f** *Pleurocapsa minor*. **III**. Oscillatoriales: **g** *Planktothrix agardhii*, **h** *Limnothrix redekei*, **i** *Arthrospira jenneri*, **j** *Johanseninema constricum*, **k** *Phormidium sp.*, **l**, **m** *Oscillatoria sp.*, **n** *Schizothrix sp.*, **o** *Tolypothrix sp.*, **p** *Katagnymene accurata.*, **IV**. Nostocales: **q** *Dolichospermum planctonicum*, **r** *Dolichospermum sp.*, **s** *Nostoc sp.*, **t** *Nodularia moravica*. **V**. Stigonematales: **u**, **v** *Stigonema sp.* (Echelle a–u = 10 µm, v = 20 µm ; d'après Dvořák *et al.* 2015).

I.1.3 Les picocyanobactéries marines

Au sein du phytoplancton marin, deux genres dominent aujourd'hui les communautés cyanobactériennes : *Prochlorococcus* et *Synechococcus*. Ce sont les plus petits photoautotrophes connus avec des cellules de l'ordre du micromètre de diamètre (Figure 12). Ces deux picocyanobactéries unicellulaires sont considérées comme les organismes photosynthétiques les plus abondants sur Terre et ont ainsi une importance majeure dans le fonctionnement des océans et la biogéochimie planétaire. Ils représentent environ 30% de la biomasse carbonée phytoplanctonique globale et contribuent jusqu'à 25% à la production primaire dans de grandes régions océaniques (Agawin *et al.* 2000 ; Flombaum *et al.* 2013 ; Li 1994 ; Liu 1997).

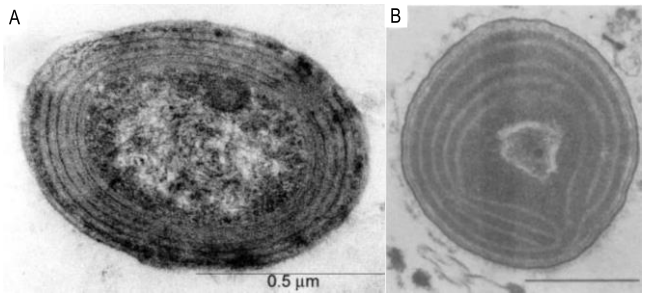


Figure 12| Cellule de *Prochlorococcus* sp. (A, Bryant 2003) et *Synechococcus* sp. (B, Chisholm *et al.* 1988) visualisés en microscopie électronique à transmission (échelles : 0,5 µm).

Au regard de l'apparition des cyanobactéries sur Terre (il y a environ 3,5 milliards d'années), on pense que l'émergence des picocyanobactéries marines est récente : il a été montré que leur ancêtre commun daterait d'il y a 590 millions d'années (Sánchez-Baracaldo 2015). Leur découverte est tout aussi récente et date des années 1970-1980. Le premier genre découvert grâce à la microscopie à épifluorescence est *Synechococcus* (Waterbury *et al.* 1979). En effet, ces cellules ont la particularité d'autofluorescer en jaune-orange, de par la présence d'une protéine pigmentée impliquée dans la collecte de l'énergie lumineuse : la phycoérythrine (PE, voir « L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome »). Une dizaine d'années plus tard, l'adaptation des techniques de cytométrie en flux à l'océanographie a permis de découvrir les minuscules cellules de *Prochlorococcus* dans des échantillons prélevés *in situ* (Chisholm *et al.* 1988). Ces deux picocyanobactéries ont ensuite été retrouvées dans de nombreux écosystèmes océaniques, avec quelques différences de distribution. Les cellules du genre *Prochlorococcus* sont particulièrement abondantes dans les vastes régions chaudes et oligotrophes de l'océan mondial, généralement détectées dans toute la couche euphotique, avec des limites latitudinales de distribution se situant vers 48-45°NS (Figure 13A, Flombaum *et al.* 2013 *;* Partensky *et al.* 1999 ; Johnson *et al.* 2006 ; Zwirglmaier *et al.* 2007). Les *Synechococcus* présentent, quant à eux, une distribution quasi ubiquiste, de l'équateur jusqu'aux cercles polaires (Figure 13B), avec de plus fortes abondances généralement en surface des eaux mésotrophes (Zwirglmaier *et al.* 2008 ; Flombaum *et al.* 2013).

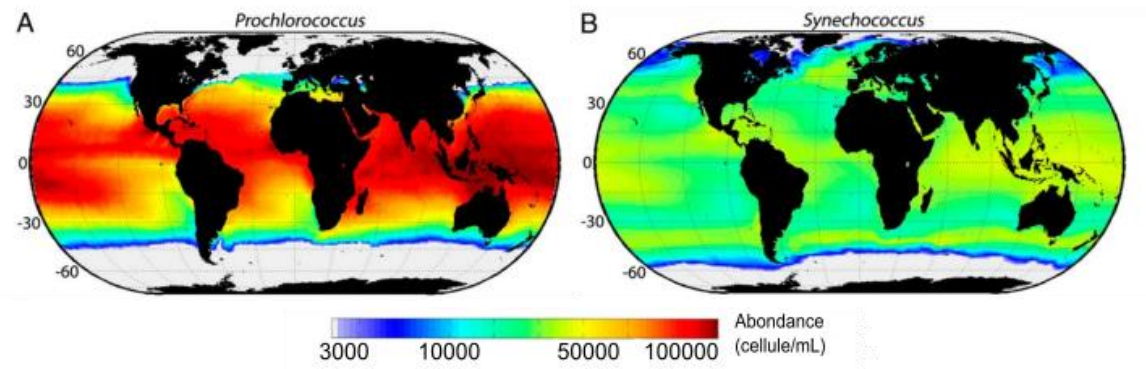


Figure 13| Modèles de distribution globale des genres de picocyanobactéries marines dominants les océans. **(A)** *Prochlorococcus* et **(B)** *Synechococcus* (en moyenne annuelle d'abondance en surface cellule/mL; Flombaum *et al.* 2013).

Depuis leur découverte il y a une quarantaine d'années, un grand nombre de travaux scientifiques ont été menés sur *Prochlorococcus* et ce n'est que depuis le début des années 2000 que les recherches sur les *Synechococcus* ont commencé à s'intensifier.

I.2 Le genre *Synechococcus*

I.2.1 Diversité et phylogénie

Les cyanobactéries du genre *Synechococcus* constituent un groupe polyphylétique (Honda *et al.* 1999) regroupant des individus dulcicoles, halotolérants et marins. La radiation contenant les représentants marins de ce genre forme un cluster monophylétique numéroté 5, qui aurait récemment émergé des cyanobactéries pour s'adapter au milieu marin, lui-même initialement divisé en 3 sous-clusters 5.1, 5.2 et 5.3 (Figure 14, Herdman *et al.* 2001). Le sous-cluster 5.3 regroupe 6 clades de *Synechococcus*, avec des lignées marines et d'eau douce (Cabello-Yeves *et al.* 2017). Quelques études suggèrent qu'il est quasi ubiquiste et que certains clades seraient retrouvés préférentiellement en profondeur (Huang *et al.* 2012 ; Sohm *et al.* 2016). Il reste cependant encore très mal connu, notamment de par la rareté des souches isolées en laboratoire (Huang *et al.* 2012). Le sous-cluster 5.2 regroupe des organismes principalement d'eau douce et halotolérants présents notamment en milieux estuariens et certaines souches représentatives ont été retrouvées en milieu côtier arctique (Huang *et al.* 2012 ; Larsson *et al.* 2014). La majorité des souches de ce sous-cluster ont la phycocyanine (PC) comme pigment photosynthétique principal, mais certaines autres possèdent également de la PE (voir « L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome »).

La plupart des souches purement marines de *Synechococcus* sont rassemblées dans le sous-cluster monophylétique 5.1, qui semble être le plus diversifié des 3 sous-clusters existants

(Rocap *et al.* 2003 ; Fuller *et al.* 2003 ; Dufresne *et al.* 2008 ; Scanlan *et al.* 2009 ; Huang *et al.* 2012 ; Ahlgren and Rocap 2012). Des études phylogénétiques utilisant différents marqueurs génétiques ont permis de préciser la diversité de ce sous-cluster. Les premières, basées sur l'ARN 16S, ont permis de mettre en évidence une dizaine de clades (Fuller *et al.* 2003 ; Scanlan *et al.* 2009). Plus récemment, diverses campagnes océanographiques en combinaison avec l'utilisation d'un marqueur génétique à haute résolution, le gène *pet*B, ont permis de définir entre 16 et 18 clades au sein de ce groupe (Farrant *et al.* 2016). C'est de cette radiation qu'a émergé il y a environ 150 millions d'années le genre *Prochlorococcus,* qui constitue quant à lui un groupe monophylétique d'organismes strictement marins à l'intérieur du cluster 5.1 (Figure 14).

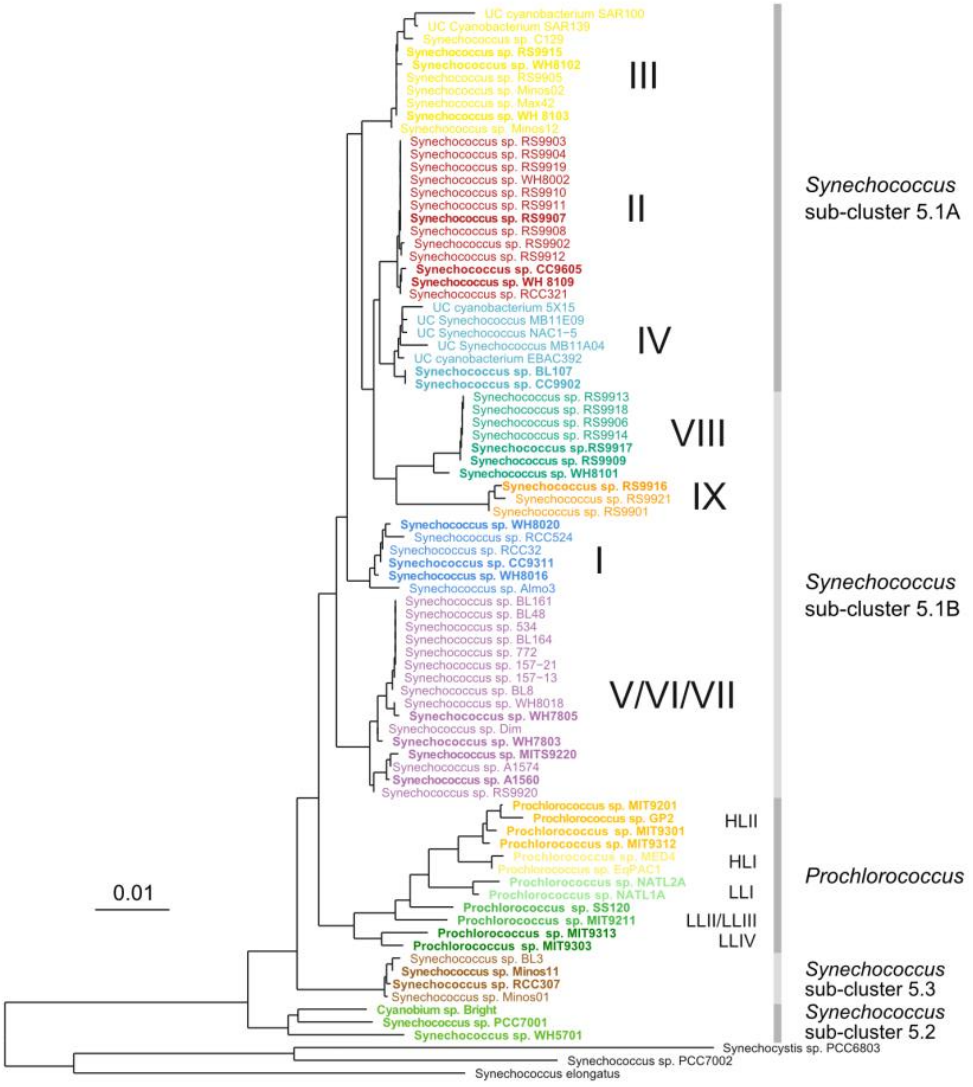


Figure 14| Arbre phylogénétique des picocyanobactéries marines basé sur le gène 16S de l'ARN ribosomal. L'arbre, en *Neighbor Joining* représente les relations phylogénétiques entre les picocyanobactéries marines. Uniquement les valeurs de bootsrap supérieures à 70% sont montrées, les ronds blancs représentent les valeurs entre 70 et 80%, et les ronds noir celles supérieures à 90% (Scanlan *et al*. 2009, modifié par Grébert 2017).

I.2.2 Morphologie et ultrastructure

Organismes unicellulaires, se multipliant par division binaire, les *Synechococcus* marins appartiennent au premier groupe de la classification de Rippka et collaborateurs (Tableau 1, Rippka *et al.* 1979). Ils présentent une morphologie coccoïde et une enveloppe cellulaire de type Gram négative, mise en évidence chez les *Synechococcus* marins par Omata and Murata en 1984. A l'intérieur de la cellule se trouve un système endomembranaire constitué de thylacoïdes organisés de façon concentrique (Figure 12, Figure 15). A l'instar des algues rouges, l'appareil photosynthétique des *Synechococcus* possède une antenne collectrice de lumière externe à la membrane thylacoïdienne, appelée phycobilisome (PBS, voir « L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome »). Parmi les constituants cellulaires, on retrouve notamment un nucléoïde (brin d'ADN circulaire) et éventuellement un ou plusieurs plasmides, des ribosomes (structures permettant la traduction de l'ARNm en protéines) et des carboxysomes (structures icosaédriques qui sont le lieu de la phase sombre de la photosynthèse, voir « Les réactions « sombres »).

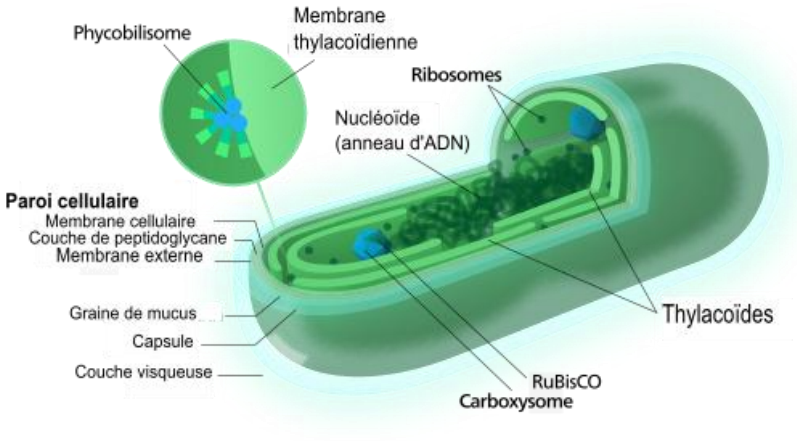


Figure 15| Représentation schématique d'une cyanobactéries du genre *Synechococcus* (modifié de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cyanobacterium-inline.svg)

I.3 La photosynthèse chez les *Synechococcus* marins

I.3.1 Généralités et fonctionnement

Les cyanobactéries sont les seuls organismes procaryotes à réaliser la photosynthèse oxygénique. Ce processus consiste globalement en la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique de liaison, servant à la fixation de molécules de dioxyde de carbone pour la synthèse de glucides. La réaction globale de la photosynthèse oxygénique s'écrit classiquement comme :

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O \xrightarrow{Lumière} C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

Cette réaction globale ne tient pas compte du détail des nombreuses réactions intervenant dans le processus, qui est généralement divisé en deux phases. Tout d'abord, les réactions « claires » qui ont lieu dans le système thylacoïdien, nécessitent la lumière et ont pour but de former des molécules de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et d'adénosine triphosphate (ATP dans le cytosol. Ces dernières sont utilisées dans les réactions « sombres », indépendantes de la lumière, qui permettent la fixation du CO_2 par la Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Oxygénase (RuBisCO) et la synthèse de glucides par le cycle de Calvin-Benson.

a. Les réactions « claires »

Quatre principaux complexes protéiques photosynthétiques établissent un transfert d'électrons au sein des thylacoïdes : le photosystème (PS) II associé au PBS, le cytochrome b_6f, le PSI et l'ATP synthétase. Le PSII est composé d'un centre réactionnel (CR) qui comprend deux protéines principales, D1 et D2, associées à un certain nombre de cofacteurs tels que des quinones, des molécules de chlorophylle *a* (chl *a*), de phéophytine et de β-carotène. Il comprend aussi une antenne interne, constituée des deux protéines CP43 et CP47. Sur la face luminale, on trouve un complexe de photolyse de l'eau (OEC pour *Oxygen Evolving Complex*), constitué généralement de trois protéines (33, 23 et 16kDa) complexées à des atomes de manganèse, du calcium et du chlore (Figure 16, Jupin and Lamant 1999).

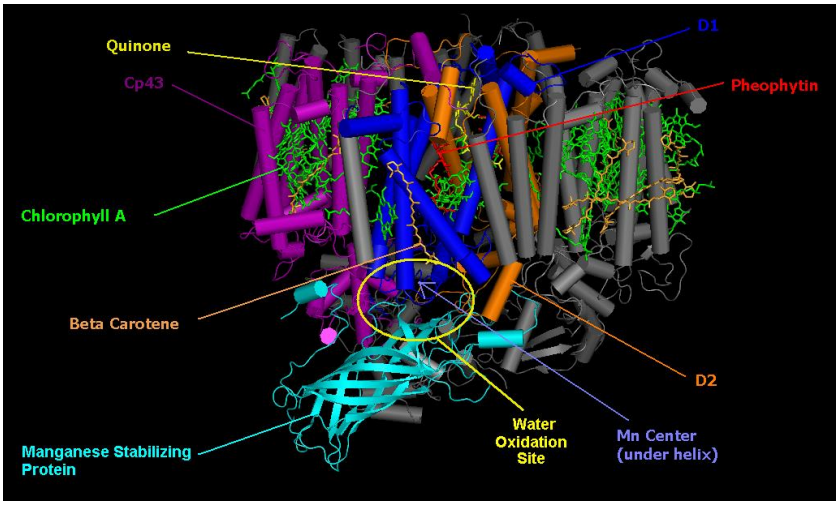


Figure 16| Structure d'un monomère de centre réactionnel du PSII de cyanobactérie. Le cristal protéique a été purifié chez *Thermosynechococcus elongatus*, à la résolution de 3Å. Les différentes protéines composant le super-complexe sont différentiellement colorées, et la localisation des protéines principales est indiquée sur la structure (Neveu, Curtis, PDB-2 AXT).

Le PSI est composé des deux protéines principales PsaA et PsaB très riches en chl *a* et β-carotène, qui lient aussi des cofacteurs tels que des centres fer-soufre. Les deux photosystèmes (PS) comprennent aussi un ensemble de protéines de petite taille dont les fonctions ne sont pas toujours bien connues. Le cytochrome b_6f assure le lien entre les deux PS et permet notamment des processus de transport cyclique d'électrons (Jupin and Lamant 1999).

Tous ces transferts d'électrons sont ordonnés en fonction des différents potentiels d'oxydo-réduction des accepteurs d'électrons (Figure 17). La paire spéciale de chl *a* du PSII, appelée P680, reçoit l'énergie lumineuse de l'antenne photosynthétique et réalise la séparation de charge, qui a pour conséquence le transfert d'un électron à un accepteur primaire. Cette paire spéciale de chl *a* revient à son état stable en récupérant l'électron perdu *via* le complexe OEC, qui décompose des molécules d'eau en dioxygène et en protons, libérés dans le lumen des thylacoïdes. Le flux d'électrons initié par la paire de chl *a* du PSII se propage dans le CR *via* plusieurs accepteurs, dont une molécule de phéophytine et des quinones, jusqu'à la plastoquinone (PQ). Cette dernière molécule, soluble dans les membranes thylacoïdiennes, réduit le cytochrome b_6f. Il transfère les électrons à une cuproprotéine, la plastocyanine, soluble dans le lumen du thylakoïde. La plastocyanine rend ses électrons à la paire spéciale de chl *a* (P700) excitée du PSI. Le flux d'électrons transite *via* différents accepteurs du PSI jusqu'à la ferrédoxine, accepteur final des électrons du PSI. Cette dernière, ainsi réduite, réagit notamment avec une autre protéine, la Ferrédoxine-NADPH réductase, qui réduit simultanément la molécule de $NADP^+$ en NADPH. De façon concomitante, l'activité de la PQ et du sous-complexe du PSII qui décompose les molécules d'eau conduit à

l'augmentation de la concentration en protons dans le lumen. Ce gradient de pH transmembranaire généré par le transfert linéaire d'électron permet le fonctionnement de l'ATP synthétase thylacoïdale, qui réalise la synthèse d'ATP dans le cytosol (ou le stroma chez les eucaryotes).

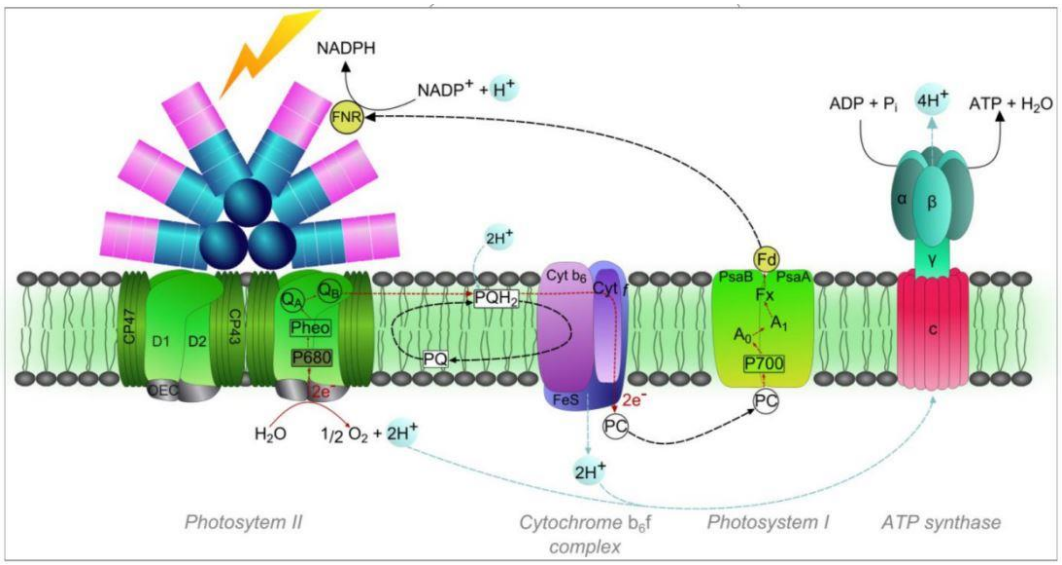


Figure 17| Représentation des principaux complexes protéiques thylacoïdiens impliqués dans le transfert linéaire d'électrons photosynthétiques chez *Synechococcus*. Les quatre complexes des réactions claires de la photosynthèse sont présents dans les thylacoïdes, en forme de sacs membranaires circulaires dans le cytosol. L'absorption lumineuse par le phycobilisome génère un ensemble de réactions biochimiques qui s'initient par un flux d'électrons (en rouge) et de protons (en bleu).

En 1954, Arnon et collaborateur ont mis en évidence une voie alternative de transport d'électrons, appelée le transport cyclique des électrons (Arnon *et al.* 1954 ; Figure 18). Il contribue à créer une force proton-motrice génératrice d'ATP sans réduction de NADPH, et est utile notamment en cas de photoinactivation du PSII. Cette voie est aussi mobilisée chez les cyanobactéries lors des transitions d'état, où le PBS passe du PSII au PSI (voir « La photoinactivation du PSII »).

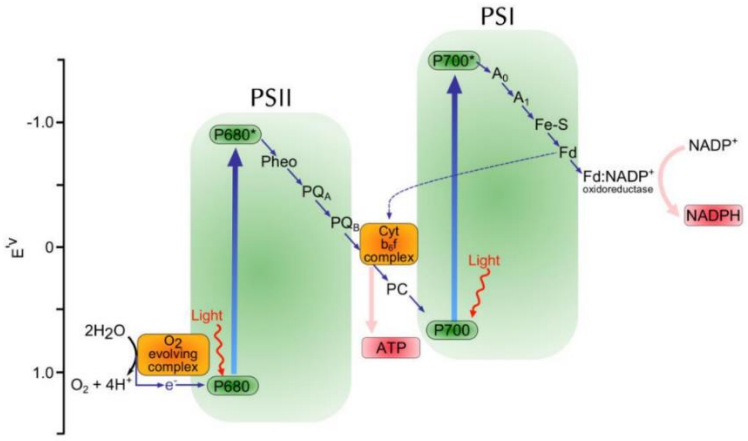


Figure 18| Schéma en « Z » représentant le transfert d'électrons lors de la photosynthèse oxygénique conduisant à la photolyse de l'eau, à la formation de dioxygène, d'ATP et de NADPH. Les chlorophylles P680 et P700 sont les donneurs primaires des photosystèmes II et I respectivement. Pheo : phéophytine; PQA : plastoquinone A; PQB : plastoquinone B; PC : plastocyanine; A0 et A1 : accepteurs d'électrons; Fe-S : protéine fer-soufre; Fd: ferredoxine. La ligne discontinue représente la voie de transfert cyclique des électrons, qui n'implique que le photosystème I (Humily 2013).

b. Les réactions « sombres »

Les réactions sombres sont une série de réactions biochimiques indépendantes de la lumière, qui ont lieu dans des structures icosaédriques appelées carboxysomes. Elles mettent en scène l'incorporation du CO_2 dans les composés organiques glucidiques grâce à l'ATP et au NADPH produits lors de la phase claire. Ces réactions cycliques sont mieux connues sous le nom de cycle de Calvin-Benson (Figure 19). La première étape consiste en la transformation du bicarbonate en CO_2 catalysée par l'anhydrase carbonique (CA), et l'accumulation de ce dernier dans le carboxysome, qui favorise l'activité carboxylase de la RuBisCO et limite ainsi la photorespiration (Jupin and Lamant 1999). Le résultat est la conversion de carbone inorganique en en carbone organique, élément majeur de tous les constituants cellulaires. Une partie des molécules issues de des réactions du cycle de Calvin-Benson (3-Phosphoglycérate) sera utilisée pour la synthèse de fructose bisphosphate, intermédiaire de tous les sucres utilisés ensuite par la cellule (Jupin and Lamant 1999).

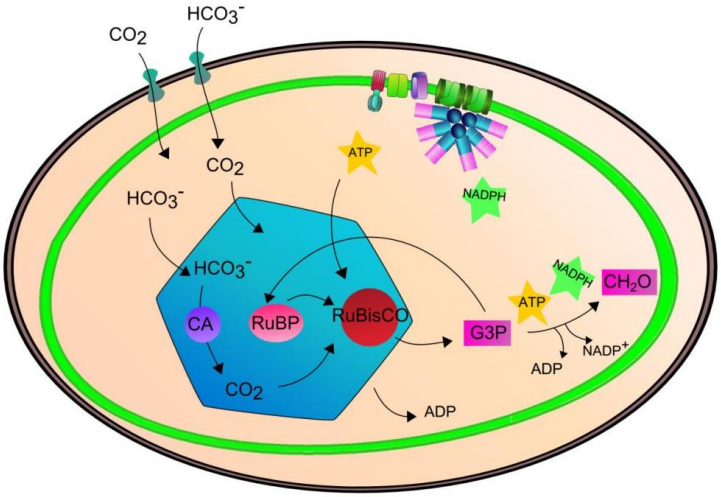


Figure 19| Représentation du cycle de Calvin-Benson au sein d'une cellule cyanobactérienne. La première étape consiste en la transformation du bicarbonate en CO_2 catalysée par l'anhydrase carbonique (CA), et l'accumulation de ce dernier dans le carboxysome (en bleu). En utilisant l'ATP produit au cours de la phase claire, la Ribulose 1,5 Bisphosphate Carboxylase Oxygénase (RuBisCO) permet l'incorporation du CO_2 dans une molécule de ribulose 1,5 biphosphate (RuBP) qui se scindera en deux molécules de 3-phosphoglycérate (G3P) Une partie des molécules de 3-phosphoglycérate est utilisée pour régénérer les molécules de ribulose 1, bisphosphate, alors que l'autre partie représente le gain net du cycle et constitue le point de départ de la synthèse des sucres (Pittera 2015).

I.3.2 Composition pigmentaire

a. Les pigments photosynthétiques membranaires

Les pigments présents chez les *Synechococcus* peuvent être classés en trois catégories : les phycobilines, la chl *a* et les caroténoïdes, qui comprennent le β-carotène et des xanthophylles (Figure 20). Ces pigments leur permettent de capter un large éventail de longueurs d'ondes du spectre lumineux, servent au transfert de l'énergie lumineuse jusqu'au CR et peuvent jouer un rôle dans la photoprotection. Alors que les phycobilines sont les pigments constitutifs des bras de l'antenne externe des *Synechococcus* (voir « L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome »), la chl *a* et les caroténoïdes sont des molécules hydrophobes localisées dans les membranes et souvent aux CRs des PS.

La chl *a* participe donc à la collecte et au transfert de la lumière dans les antennes interne, et réalise les séparations de charge dans le cas des paires spéciales. En ce qui concerne les molécules de β-carotène, elles sont considérées comme photoprotectrice et/ou antioxydantes (voir « La photoinactivation du PSII »). Chez les cyanobactéries en général, on rencontre une certaine diversité de xanthophylles telles que la zéaxanthine, l'échinénone et ses dérivés, les myoxanthophylles, la nostoxanthine la canthaxanthine, *etc.* (Voir eg. Takaichi 2011). Leur rôle est

souvent associé à des mécanismes de photoprotection mais certaines sont aussi reconnues pour leur importance dans la stabilité des complexes photosynthétiques (Tóth *et al.* 2015).

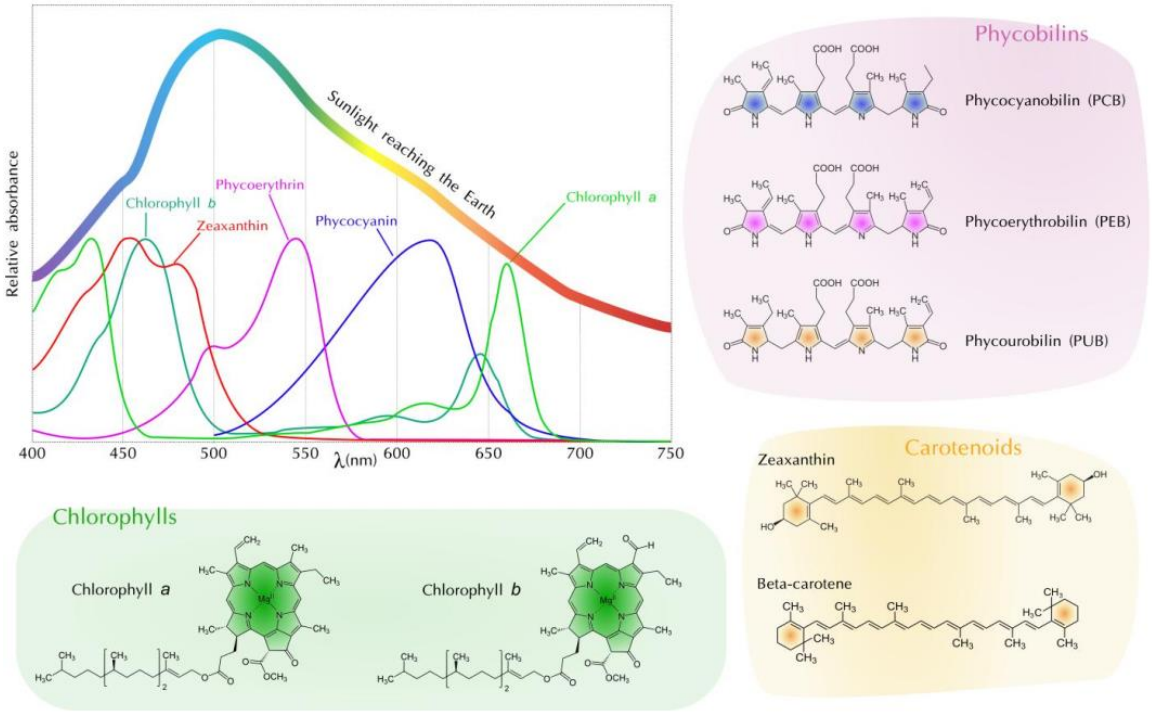


Figure 20| Spectres d'absorption de la lumière visible des pigments majoritaires retrouvés au sein des cellules planctoniques et structures moléculaires associées. Trois groupes de pigments sont représentés avec les caroténoïdes, les chlorophylles ainsi que les chromophores fixés au niveau des phycobiliprotéines (Humily 2013).

Chez les *Synechococcus* marins, la chl *a* et la zéaxanthine sont les pigments majoritaires, et le β-carotène est généralement présent à des quantités environ dix fois plus faibles (Kana *et al*. 1988 ; Six *et al.* 2004). Il a été démontré que les contenus cellulaires de ces pigments changent en réponse à des variations environnementales. Les résultats de différentes études sur cellules acclimatées montrent souvent une co-variation des contenus cellulaires en chl *a* et β-carotène, en réponse à une augmentation de l'intensité lumineuse (Jordan *et al.* 2001 ; Kana *et al.* 1988 ; Six *et al.* 2004). Ceci est classiquement expliqué par la co-localisation de ces molécules sur les photosystèmes (Loll *et al.* 2005). Les rôles et la localisation précise de la zéaxanthine chez les *Synechococcus* marins demeurent aujourd'hui mystérieux. Certaines études ont montré chez les souches WH7803 et WH8102 que les contenus cellulaires ne varient pas en réponse à des variations d'éclairement (Kana and Glibert 1987 ; Six *et al.* 2004). De façon intéressante, d'autres études discutent de l'importance des xanthophylles libres dans la fluidité des membranes biologiques (Gruszecki and Strzałka 2005).

b. *L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome*

Le phycobilisome (PBS) est un macrocomplexe multiprotéique de très grande taille, composé de phycobiliprotéines dont Il existe différentes classes: l'allophycocyanine (APC), les PC et les PE (Figure 21). Les phycobiliprotéines sont des protéines hexamèriques cylindriques, hydrosolubles et vivement colorées de par les chromophores qu'elles lient, les phycobilines. Le PBS comprend deux parties principales : un cœur composé d'APC et une série de plusieurs bras périphériques composés d'autres phycobiliprotéines (PBP, Glazer 1994) assemblées précisément : la PC et souvent la PE. L'ensemble du PBS est stabilisé par des polypeptides de liaison (*linkers*), qui sont aussi nécessaires au bon fonctionnement de l'antenne (Sidler 1994), et qui se succèdent à l'intérieur des bras du PBS. L'ensemble induit un transport d'énergie orienté des PBP distales jusqu'au cœur d'APC et *in fine*, jusqu'au CR des PS (Glazer 1989).

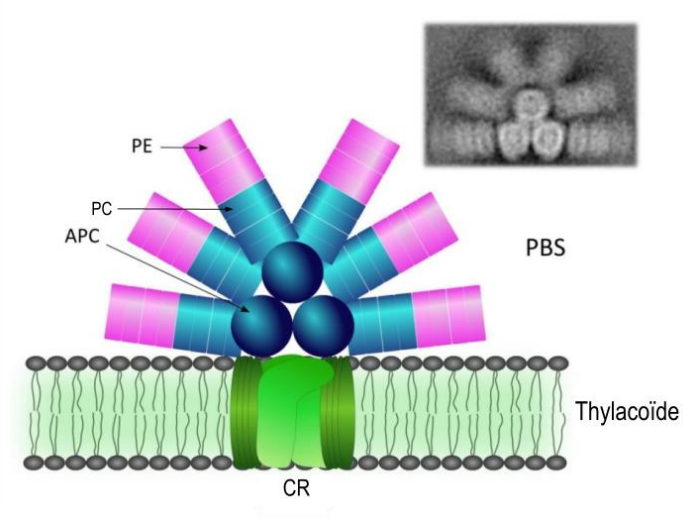


Figure 21| Structure du phycobilisome associé aux membranes thylacoïdiennes chez les cyanobactéries. Le nom des phycobiliprotéines constituant le bras est indiqué : phycoérythrine (PE) et phycocyanine (PC). Le cœur est constitué d'allophycocyanine (APC) (modifié de Pittera 2015). L'encart représente un phycobilisome par microscope électronique à transmission (Arteni *et al.* 2009)

Différents types pigmentaires ont été définis chez les *Synechococcus* marins en fonction de leur composition en PBP et des phycobilines associées. Cette variabilité de la composition de l'antenne photosynthétique est à l'origine d'une diversité remarquable de pigmentation chez ces organismes, découverte très tôt par Waterbury et collaborateurs (1986), au regard de la diversité de couleurs des cultures obtenues en laboratoire (Figure 22A). Cette particularité physiologique leur permet de se spécialiser dans l'absorption de certaines gammes de longueurs d'onde du spectre lumineux (Figure 22B).

Ces types pigmentaires vont du type 1 au type 3 (Figure 22C, Six *et al.* 2007). Les cyanobactéries appartenant au type pigmentaire I ont les bras de leurs PBS uniquement composés

de C-PC, qui porte trois molécules de la phycobiline bleue, la phycocyanobiline, PCB). C'est ce qui donne la couleur bleu-vert typique aux cultures de cyanobactéries présentant ce type pigmentaire (Figure 22A, B). Les types pigmentaires 2 présentent des bras de PBS dont la partie proximale est composé de C-PC ou de R-PC, qui porte des molécules de PCB et d'une autre phycobiline, de couleur rouge : la phycoérythrobiline (PEB). La partie distale est composée de PE-I, qui porte 5 molécules de PEB. Ces cultures présentent une couleur violacée-fuchsia (Figure 22A, B). Les bras de PBS des types pigmentaires 3 sont composés quant à eux de R-PC en position proximale, de PE-I mais également de PE-II. Cette dernière lie une association de phycourobiline (PUB), une phycobiline orangée (absorption dans le bleu-vert à 495 nm), et de PEB (absorption dans le vert à 545 nm). Les PC des souches de type pigmentaire 3 peuvent être trichromatiques et elles portent alors les trois différentes phycobilines (Blot *et al.* 2009). Cette association donne des couleurs aux cultures allant du rouge-rose à l'orange (Figure 22A).

Le type pigmentaire 3 est le plus complexe et le plus courant des types pigmentaires chez les *Synechococcus* marins. Il peut être subdivisé en 4 sous-types, définis selon les proportions des chromophores PUB et PEB, fixés principalement sur les deux PE (Six *et al.* 2007). Les rapports molaires de ces deux phycobilines s'estiment couramment par la mesure relative de leur fluorescence sur des spectres d'excitation (F_{495nm} : F_{545nm}). Le sous-type pigmentaire 3a présente un rapport faible d'excitation de fluorescence (F_{495nm} : F_{545nm} ~ 0,40), faisant de ces cellules des spécialistes de l'absorption de la lumière verte. Les types pigmentaires 3b ont un rapport moyen (F_{495nm} : F_{545nm} ~ 0,75) et les types pigmentaires 3c présentent un rapport élevé (F_{495nm} : F_{545nm} > 1,5), faisant de ces derniers des spécialistes de l'absorption de la lumière bleue. Ces types pigmentaires sont fixes pour une souche donnée. Toutefois, un autre sous-type pigmentaire a été défini par Palenik (2001), appelé adaptateurs chromatiques de type IV (Palenik 2001 ; Everroad *et al.* 2006). Il correspond au sous-type pigmentaire 3d (Figure 22A, C). Les cellules de ce sous-type ont la capacité de faire varier dynamiquement leur composition en PUB et PEB en réponse à la qualité de la lumière. Les souches présentent ainsi un spectre d'excitation de fluorescence similaire au type 3b sous lumière blanche ou verte et au type 3c sous lumière bleue.

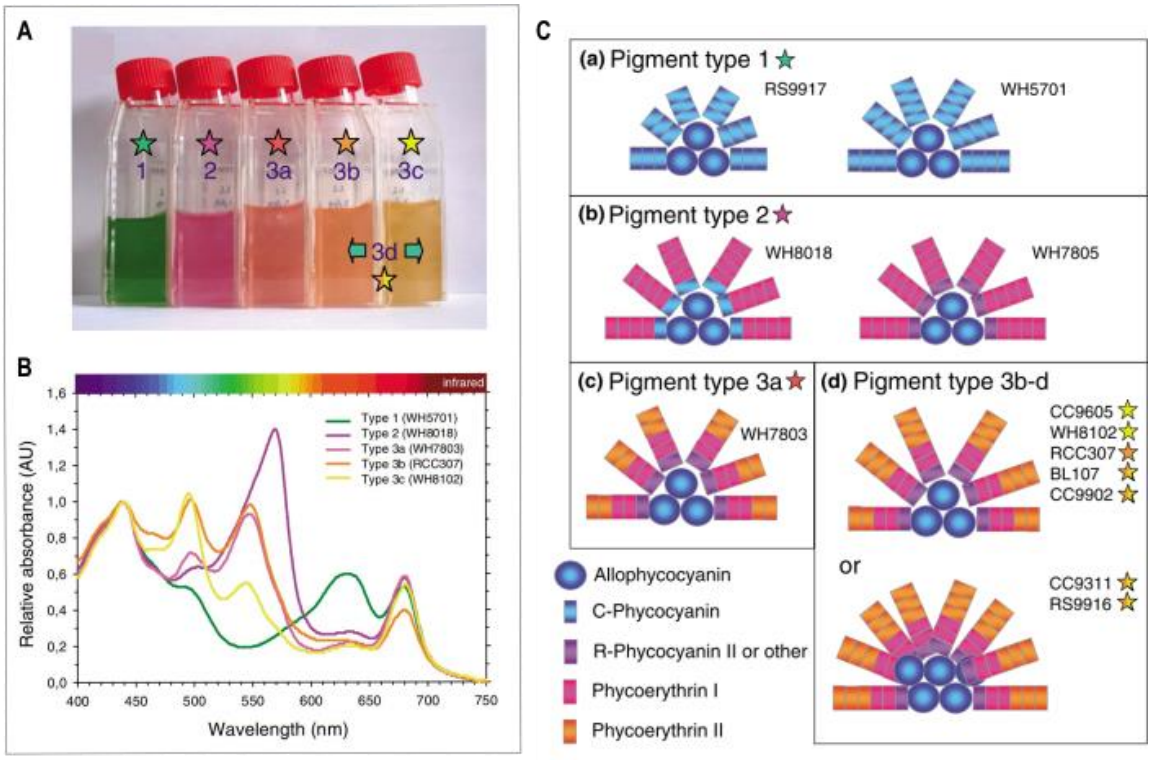


Figure 22| Illustration des différents types pigmentaires chez les *Synechococcus* marins. (A) Photographie de souches cultivées représentatives des principaux types de pigments (1-3) et des sous-types (3a-d) de *Synechococcus* marins cultivés sous faible lumière blanche. Le sous-type pigmentaire 3d correspond aux adaptateurs chromatiques de type IV, capables de modifier la composition de leur phycobilisome (PBS) du sous-type 3b lorsqu'ils sont cultivés sous lumière blanche ou verte au sous-type 3c lorsqu'ils sont cultivés sous lumière bleue. Les différentes couleurs des étoiles du panneau A constituent un code pour les différents types de pigments **(B)** Propriétés d'absorption correspondantes de cellules entières et **(C)** Modèles proposés de structure du PBS pour les différents types et sous-types de pigments de *Synechococcus* (d'après Six *et al.* 2007).

Dans leur étude de 2007, Six et collaborateurs ont comparé les génomes des différentes souches représentatives des différents types pigmentaires et ont montré que les gènes impliqués dans la synthèse et la régulation de la composition des bras des PBS sont réunis dans une région du génome dédiée qui est typique du type pigmentaire de la souche (Six *et al.* 2007).

Plus récemment, la comparaison des génomes a montré que les adaptateurs chromatiques possédaient dans leur génome une petite région spécifique appelée l'îlot génomique CA4 qui existe sous deux formes : CA4-A et CA4-B. Ces deux formes définissent des types pigmentaires d'adaptateurs chromatiques qui correspondent à deux génotypes 3dA et 3dB (Humily *et al.* 2013). En 2014, Larsson et collaborateurs ont découvert, dans les métagénomes de la mer Baltique, une nouvelle région génomique associée aux bras des PBS présentant un ordre génétique original. Les auteurs en ont conclu que cette composition génétique correspond à des souches ayant des bras de PBS composés de PC et de PE-I. Ils ont ainsi dénommé ce sous-type pigmentaire 2B (Larsson *et al.* 2014). De même, Xia et collaborateurs ont décrit un nouveau PBS grâce à la découverte dans les

génomes de deux nouvelles souches de *Synechococcus* marins (KORDI-100 et CC9616) une nouvelle région génomique associée aux PBS. Même si ces souches sont indiscernables des sous-types pigmentaires 3c, les auteurs ont nommé ces nouveaux sous-types 3f (Xia *et al.* 2018).

Les études de métagénomique ont contribué à l'enrichissement des connaissances sur la diversité, mais également sur la biogéographie des différents types pigmentaires des *Synechococcus* marins. En 2018, Grébert et collaborateurs ont établi une cartographie des types pigmentaires grâce aux données recueillies lors de l'expédition scientifique menée à bord de la goélette *Tara* (Figure 23). Ils ont analysé 109 échantillons de métagénomique recueillis entre 2009 et 2011, correspondant aux types pigmentaires des *Synechococcus* marins décrits ci-dessus. Cette cartographie révèle la distribution mondiale des types pigmentaires chez les *Synechococcus* et aide à la définition de leurs niches environnementales. Cette vaste étude montre que les cellules spécialistes de l'absorption de la lumière verte (sous-type pigmentaire 3a) dominent les eaux équatoriales chaudes alors que les spécialistes de la lumière bleue (sous-type pigmentaire 3c) sont particulièrement abondants en zones oligotrophes. Les acclimateurs chromatiques de type IV (CA4-A ou CA4-B) prédominent en profondeur des hautes latitudes. Certaines populations ont été identifiées également dans les eaux chaudes des zones HNLC (High Nutrients Low Chlorophyll), mais pourraient être inactives en raison de l'absence du gène associé CA4 (Grébert *et al.* 2018).

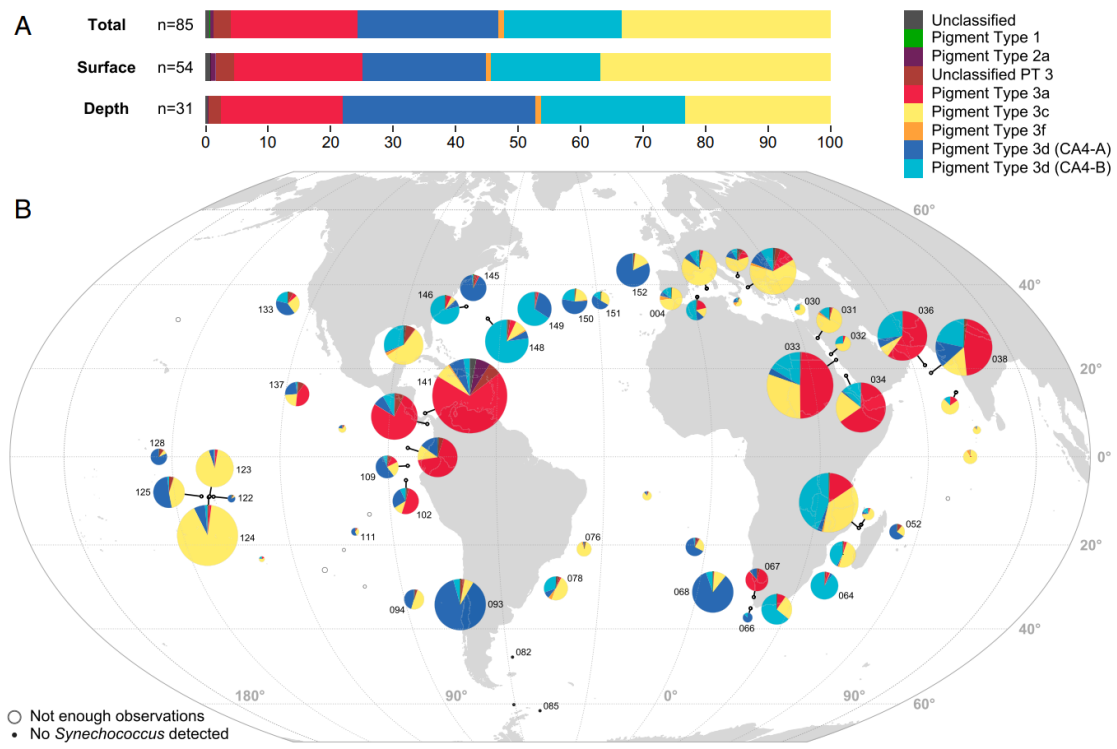


Figure 23| Distribution des types pigmentaires (PT) des *Synechococcus* marins (A) Abondance relative de chaque type pigmentaire parmi tout le jeu de données, dans toute la zone photique. **(B)** Cartographie de la distribution des différents types pigmentaires dans les eaux de surface lors du transect de l'expédition Tara Océans (Grébert *et al.* 2018)

Chez les *Synechococcus* marins, cette diversité de types pigmentaires représente une adaptation écophysiologique à la qualité de la lumière. Cette particularité participe à leur distribution le long d'un gradient côte-large (Figure 24), où la qualité spectrale de la lumière est dépendante de la matière organique en suspension (Lantoine and Neveux 1997 ; Grébert *et al.* 2018). Bien que ces variations constituent une adaptation écophysiologique, ces compositions pigmentaires si particulières ne sont pas spécifiques à des lignées génétiques et ne constituent pas d'écotypes au sens strict du terme (voir « II. 2. 1. Différenciation écotypique au sein du picophytoplancton »). La diversité pigmentaire retrouvée chez les *Synechococcus* marins élargit probablement considérablement les niches écologiques qu'ils peuvent coloniser (Xia *et al.* 2017).

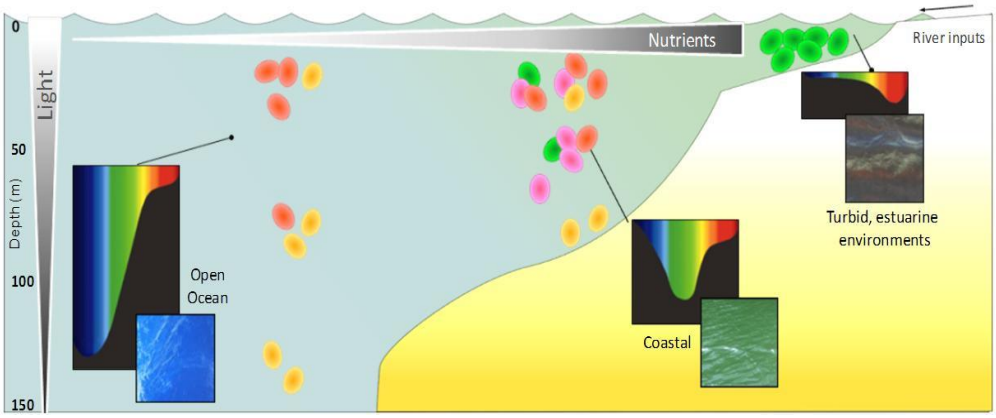


Figure 24| Distribution putative des types pigmentaires de *Synechococcus* marins dans diverses niches lumineuses, en fonction de la distance à la côte et de la profondeur (Partensky, Garczarek, Humily, non publié). Vert : type pigmentaire 1, Rose : type pigmentaire 2, Rouge : type pigmentaire 3a (spécialistes de l'absorption de la lumière verte), Orange : type pigmentaire 3c (spécialistes de l'absorption de la lumière bleue).

I.3.3 Impacts de la variation de paramètres abiotiques sur la photosynthèse

Les organismes photosynthétiques sont soumis aux variations des paramètres abiotiques du milieu, notamment la lumière et la température, qui peuvent induire des dommages au niveau de l'appareil photosynthétique. En effet, ces changements impactent l'activité métabolique générale de la cellule et entraînent une modification de la quantité d'énergie lumineuse qu'elle peut utiliser. Ainsi, par exemple, une baisse de température est susceptible de ralentir l'activité des voies métaboliques nécessitant les produits de la phase claire de la photosynthèse (ATP, NADPH) et de créer un déséquilibre entre l'énergie collectée et celle qui est métabolisable. De telles situations résultent la plupart du temps une synthèse accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS), tel que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^-) ou encore l'oxygène singulet ($^1O_2$, Figure 25).

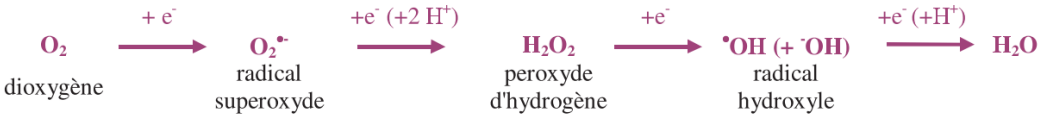


Figure 25| Intermédiaires réduits de l'oxygène. Les quatre étapes de réduction monoélectronique de l'oxygène (Gardès-Albert *et al.* 2003).

Synthétisés par la cellule, ils ne s'accumulent pas en conditions normales, notamment grâce à l'action d'antioxydants. Mais lors de stress abiotiques, les ROS peuvent s'accumuler dans la cellule et causer des dommages oxydatifs (stress oxydatif) sur les protéines, l'ADN et les lipides (Apel et Hirt 2004). Afin de réduire au maximum ces risques, mortels pour la cellule, les organismes

doivent en permanence réguler l'utilisation de la lumière en réponse à ces variations par des processus cellulaires de photoacclimatation et de photoprotection.

a. Photoacclimatation

Pour réguler l'absorption de l'énergie lumineuse incidente, il existe chez les *Synechococcus* marins (et la plupart des organismes photosynthétiques) des mécanismes importants de photoacclimatation qui impliquent notamment la régulation de la surface et du nombre des membranes thylacoïdiennes (Kana and Glibert 1987), du nombre de PS, de PBS et de la longueur des bras de ces derniers (Figure 26). Six et collaborateurs ont démontré que lorsqu'elle est acclimatée sous forte lumière, la souche *Synechococcus* sp. WH8102 réduit considérablement son contenu cellulaire en PE. Cette diminution est due à une diminution du nombre de PBS par cellule ainsi qu'à une réduction de la longueur des bras des PBS qui perd un ou deux hexamères de PE-II, phénomène qui se traduit par une baisse du rapport d'émission de fluorescence PE:PC (Six *et al.* 2004 ; 2005). Ces processus de réduction de l'antenne fonctionnelle en réponse à de forts éclairements sont généralement accompagnés d'une baisse du contenu cellulaire en chl *a* et en β-carotène (Kana and Glibert 1987) conséquence de la une baisse du contenu en PS. Des résultats comparables ont été obtenus chez les écotypes de *Prochlorococcus* (Moore *et al.* 2005).

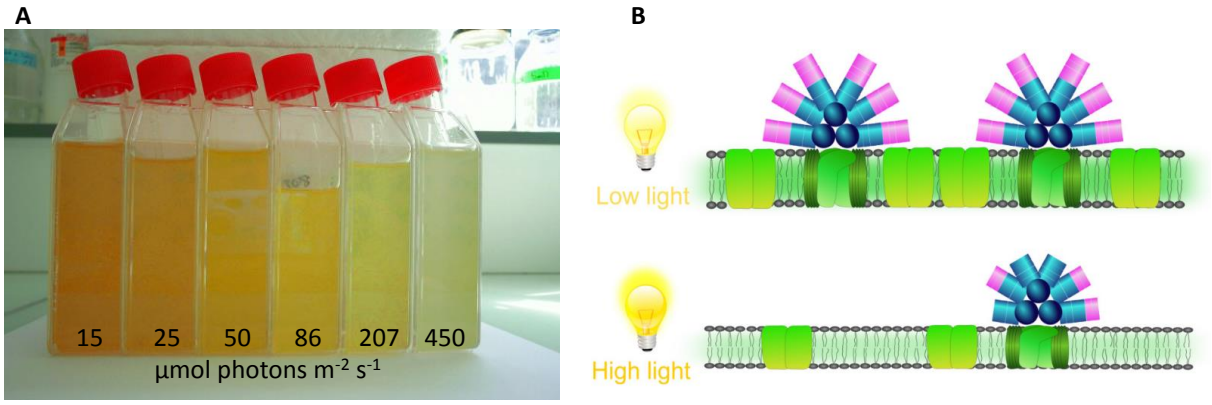


Figure 26| Modification du contenu pigmentaire en réponse à différents éclairement de culture chez la souche *Synechococcus* sp. WH8102 (A) et diagramme illustrant les mécanismes de photoacclimatation des complexes photosynthétiques chez les *Synechococcus* marins (B). Les changements de couleur des cellules sont dus à des variations importantes du contenu cellulaire en chl *a*, β-carotène et phycobilisomes, et à des ajustement des proportions des complexes dans les thylacoïdes (Six, non publié ; Pittera 2015).

Les basses températures entrainent souvent une forte diminution des taux métaboliques. Des éclairements même modérés peuvent alors devenir excessifs pour la cellule. C'est pourquoi des processus de réduction des capacités d'absorption de lumière tout à fait similaires à l'effet des fortes lumières peuvent être observé à basse température sous lumière modérée (Mackey *et al.* 2013).

Il existe d'autres systèmes de régulation de l'absorption de la lumière, plus fins, qui consistent à modifier la distribution de la lumière entre les deux photosystèmes. Par exemple, le rapport stœchiométrique des PSI par rapport aux PSII peut varier : pour des cellules cultivées sous faible lumière, ce rapport était plus faible que pour les cellules cultivées sous forte lumière (Melis 1989). Cette régulation aurait pour but, en augmentant le nombre de PSII, à ce que le flux d'électrons de sature pas le PSI, sous peine de créer du stress oxydatif.

Un mécanisme particulièrement marqué chez les cyanobactéries permet de moduler la distribution de lumière entre les PS en réponse à des conditions lumineuses changeantes : les transitions d'états (Mullineaux and Emlyn-Jones 2004). Ceci s'opère par diffusion d'un certain nombre de PBS entre les PS (Mullineaux 1994 ; Rakhimberdieva *et al.* 2001 ; Joshua 2004 ; Kirilovsky 2015 ; Choubeh *et al.* 2018). En fonction de l'intensité lumineuse et/ou de la qualité spectrale de la lumière, les cellules peuvent passer d'un état 1 (PBS énergétiquement couplés aux PSI) à un état 2 (énergétiquement couplés aux PSII, Figure 27). Sous éclairement fort, le PBS délivre préférentiellement son énergie au PSII alors que sous une intensité lumineuse faible, un certain nombre de PBS sont associés aux PSI (Van Thor *et al.* 1998). Ce mécanisme a également été montré à faible lumière chez *Synechococcus* (Mackey *et al.* 2013). Les fonctions précises et les facteurs qui régulent l'amplitude de ce mécanisme photophysiologique sont cependant encore mal compris.

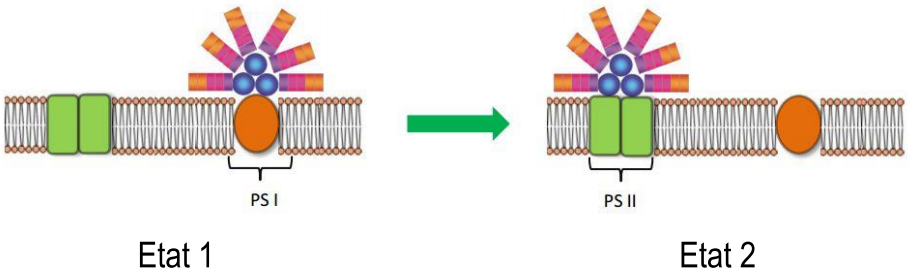


Figure 27| Schématisation du mécanisme de transitions d'état du phycobilisome. Photosystème II (PSII), photosystème I (PSI). A l'obscurité, les cyanobactéries sont principalement en état 1. L'état 2, qui permet un transfert linéaire complet d'électrons, est progressivement induit à partir d'un certain flux de photons et/ou d'une certaine qualité spectrale de lumière, en fonction des souches étudiées.

b. Photoprotection

Les mécanismes de photoacclimatation sont souvent associés à des mécanismes de photoprotection, qui sont mis en places pour limiter le phénomène de photoinactivation du PSII. Ils peuvent être mis en place en réponse à des variations soudaines des paramètres abiotiques, ou de façon plus constante si les conditions l'exigent.

La photoinactivation du PSII

Lorsque les cellules n'arrivent pas à correctement réguler l'absorption de l'énergie lumineuse incidente, les dommages causés au niveau de l'appareil photosynthétique se traduisent la plupart du temps par une photoinhibition de la photosynthèse qui débute souvent par le phénomène de photoinactivation du PSII (Figure 28). Lorsque le CR reçoit plus d'énergie qu'il ne peut en utiliser, la protéine D1 est endommagée et le CR n'est plus fonctionnel. Pour pallier à cela, les organismes photosynthétiques utilisent un cycle de réparation du PSII qui consiste en l'excision et la dégradation de la protéine D1 endommagée par les enzymes FtsH, et son remplacement par une protéine synthétisée *de novo*. La protéine D1 constitue ainsi un « fusible » qui doit être remplacé pour restaurer la fonction du CR (Takahashi and Murata 2008).

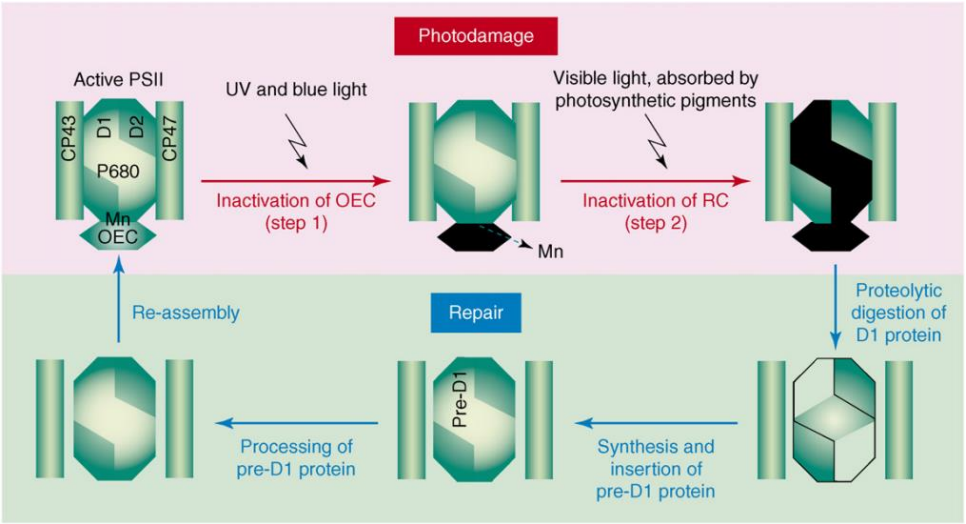


Figure 28| Cycle de réparation de la protéine D1 du photosystème II (PSII). Les UV et une partie du spectre de la lumière bleue inactivent l'Oxygen Evolving Complex (OEC). Le $PSII^+$, qui est la forme excitée du PSII ne peut alors pas revenir à son état stable, les formes de $PSII^+$ sont accumulées et causent des dommages au niveau du centre réactionnel. Le PSII est réparé grâce au remplacement la protéine D1, par la synthèse d'une nouvelle protéine et la digestion de l'ancienne protéine endommagée (d'après Takahashi et Murata 2008).

Si le taux de réparation induit par l'activité de ce cycle est plus lent que le taux de photoinactivation du PSII, alors la cellule sera constamment en état de photoinhibition. Si cette situation perdure, les PSII seront irréversiblement dégradés, la division cellulaire sera inhibée, et la cellule risque la mort par stress oxydatif. L'activité de ce cycle est donc très importante en situation de fortes variations environnementales. En particulier, il a été suggéré que cette activité était ralentie sous basse température, ce qui engendrerait alors une sensibilité accrue à la photoinactivation (Takahashi and Murata 2008).

En situation de photoinhibition, d'autres complexes photosynthétiques peuvent être irréversiblement endommagés. Chez les cyanobactéries, ceci se manifeste souvent par un découplage des PBP du PBS, voire un démantèlement complet du complexe dans le cytosol, qui provoque alors une forte augmentation de la fluorescence des PBP (Figure 29). Ceci a ainsi été observé en réponse à un stress UV (Six *et al.* 2007), aux fortes lumière (Tamary *et al.* 2012) ou encore au stress thermique (Li *et al.* 2001 ; Stoitchkova *et al.* 2007 ; Pittera *et al.* 2014).

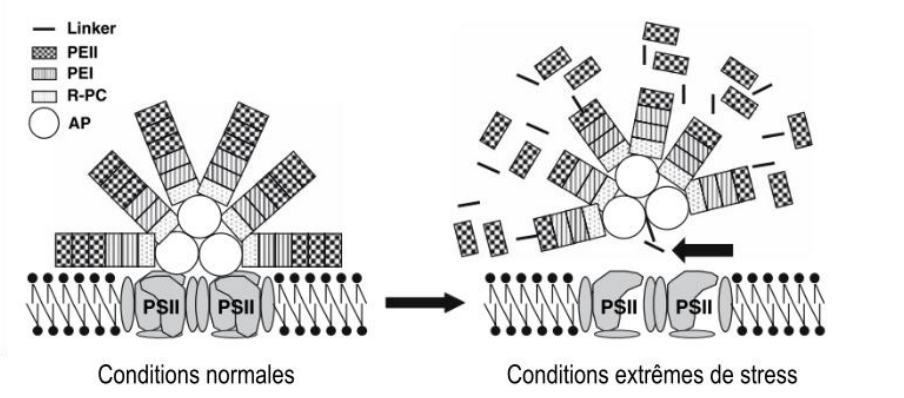


Figure 29| Représentation schématique de l'effet des UV sur le PSII et le phycobilisome de *Synechococcus* sp. WH8102. Les structures des bras des phycobilisomes sont basés sur le modèle (Six *et al.* 2005). La flèche noire de droite pointe le polypeptide de liaison L_{CM} d'ancrage (modifié de Six *et al.* 2007).

Caroténoides et caroténo-protéine

Chez les organismes photosynthétiques, les caroténoïdes sont souvent impliqués dans des mécanismes de photoprotection. Une partie du pool de β-carotène est localisé dans les CR, dans le voisinage moléculaire de la chl *a*, les protégeant des ROS (Trebst 2003 ; Telfer 2005). Récemment, certaines protéines membranaires de petites tailles connues pour leur importance dans la réponse au stress, les HLIPs (*High Light Inducible Proteins*), ont été caractérisées chez *Synechocystis* sp. PCC 6803. Ces études ont montré qu'elles lient des molécules de β-carotène et de chl *a* et sont probablement impliquées dans des mécanismes de protection (Shukla *et al.* 2018). Les *Synechococcus* marins possèdent les gènes codant pour des HLIPs mais elles n'ont jamais été caractérisées. En ce qui concerne les xanthophylles, la localisation et les fonctions précises des différents composés qu'on trouve chez les cyanobactéries sont mal connues, même si on soupçonne des rôles dans la photoprotection (Steiger *et al.* 1999 ; Domonkos *et al.* 2008 ; Zhu *et al.* 2010). Récemment, il a été montré que la zéaxanthine et l'échinénone protègent la partie réparation du cycle de réparation du PSII en diminuant la concentration en l'oxygène singulet ($^1O_2$) qui inhibe la synthèse des protéines. En effet, en étudiant des mutants de *Synechocystis* sp. PCC 6803 dont la synthèse de zéaxanthine et d'échinénone a été inhibée, Kusama et collaborateurs ont découvert que les individus étaient incapable d'induire un cycle de réparation de la protéine D1,

suggérant que ces xanthophylles sont activement impliquées dans ce mécanisme (Kusama *et al.* 2015).

Un autre mécanisme de photoprotection très étudié est la dissipation de l'énergie lumineuse excédentaire sous forme de chaleur. Généralement accompagnée d'une extinction de fluorescence du PSII appelé *non photochemical quenching* (NPQ), ce mécanisme est réalisé chez les plantes vasculaires notamment par le cycle des xanthophylles et la protéine PsbS (Roach and Krieger-Liszkay 2012). Les cyanobactéries ne possèdent cependant pas ce cycle mais sont capables de NPQ grâce à l'action d'une famille de caroténo-protéines appelée communément OCP (Orange Carotenoid Protein ; Kirilovsky 2007). Présente chez un grand nombre de cyanobactéries (Sutter *et al.* 2013), son fonctionnement a toutefois été étudié principalement chez *Synechocystis* sp. PCC 6803, à l'aide de mutants dont le gène de l'OCP a été désactivé. Ces cellules transformées étaient beaucoup plus sensibles à la photoinhibition et incapables de développer de forts NPQ (Wilson *et al.* 2006). Localisée dans la région cytoplasmique inter-thylacoïdiennes à proximité des PBS, c'est une protéine qui est orange à l'obscurité (OCP^O, forme inactive) ou à faible lumière, et adopte une forme rouge sous lumière bleu-vert (OCP^R, forme active; Wilson *et al.* 2008). L'OCP est constituée de deux domaines : un domaine N-terminal en α-hélice et un domaine C-terminal avec des α-hélices et feuillets β (Figure 30A). L'activation de cette forme par la lumière induirait une translocation d'une molécule de canthaxanthine, fixée sur la protéine et la rendant plus ouverte. Cette nouvelle structure permettrait à l'OCP^R de se fixer au niveau du cœur du PBS afin de dissiper de l'énergie lumineuse sous forme de chaleur avant qu'elle n'atteigne le CR du PSII (Leverenz *et al.* 2015). L'OCP peut revenir à son état inactif (orange) grâce à l'intervention de la protéine de récupération de la fluorescence (FRP, Boulay *et al.* 2010, Figure 30B) dont le gène est en opéron avec celui de l'OCP (Figure 31).

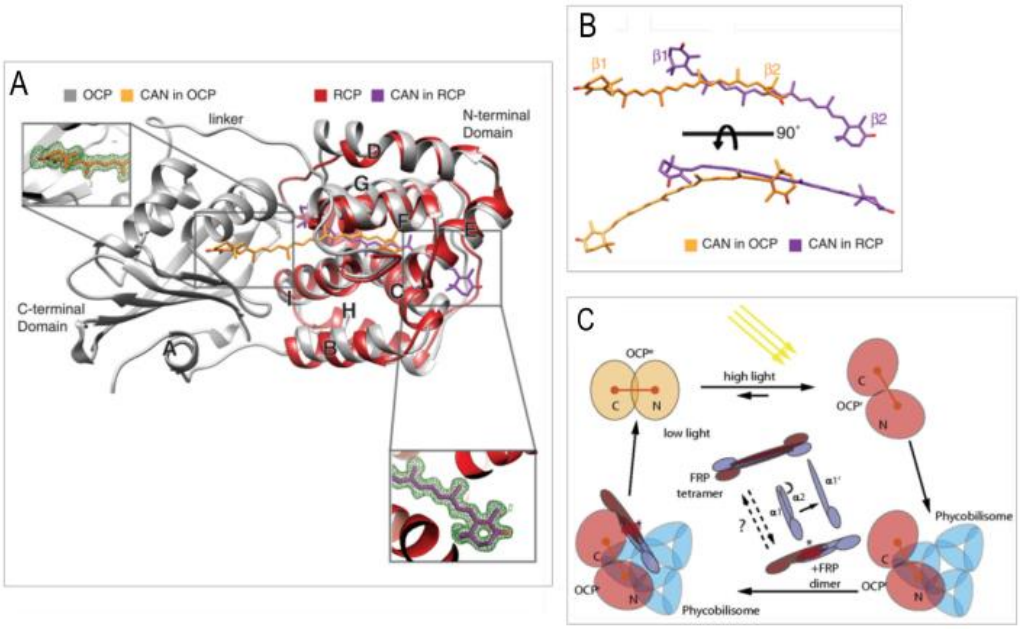


Figure 30| Structure de la caroténo-protéine orange (OCP) et changement de conformation en fonction de son état actif ou inactif. A. La superposition des cristaux de l'OCP sous son état orange inactif, OCP^O (gris) et actif OCP^R (rouge), isolée de la souche *Synechocystis* sp. PCC 6803. Le caroténoïde associé à la protéine, la canthaxanthine, est représenté en orange dans l'OCP^O et en violet dans l'OCP^R. Les panels représentent les cartes de densités électroniques du caroténoïde au sein de chaque structure (Leverenz *et al.* 2015). **B**. Conformation structurale de la canthaxanthine au sein de l'OCP^O et l'OCP^R, montrant une structure plus planaire de la chaîne polyène au sein de la protéine active (Leverenz *et al.* 2015). **C**. Modèle des interactions entre l'OCP, la FRP et l'allophycocyanine, site d'ancrage de l'OCP. Sous de fortes intensités lumineuses, l'OCP^O subit des modifications conformationnelles, induisant sa conversion en forme active OCP^R. La forme rouge se fixe à l'allophycocyanine pour dissiper l'excès d'énergie. La FRP se fixe sur l'OCP^R et la convertit en sa version inactive, l'OCP^O, puis la dissocie du phycobilisome (Sutter *et al.* 2013). RCP : Caroténo-Protéine Rouge ; CAN : canthaxanthine ; FRP : Protéine de Récupération de la Fluorescence (Figure tirée de Pittera 2015).

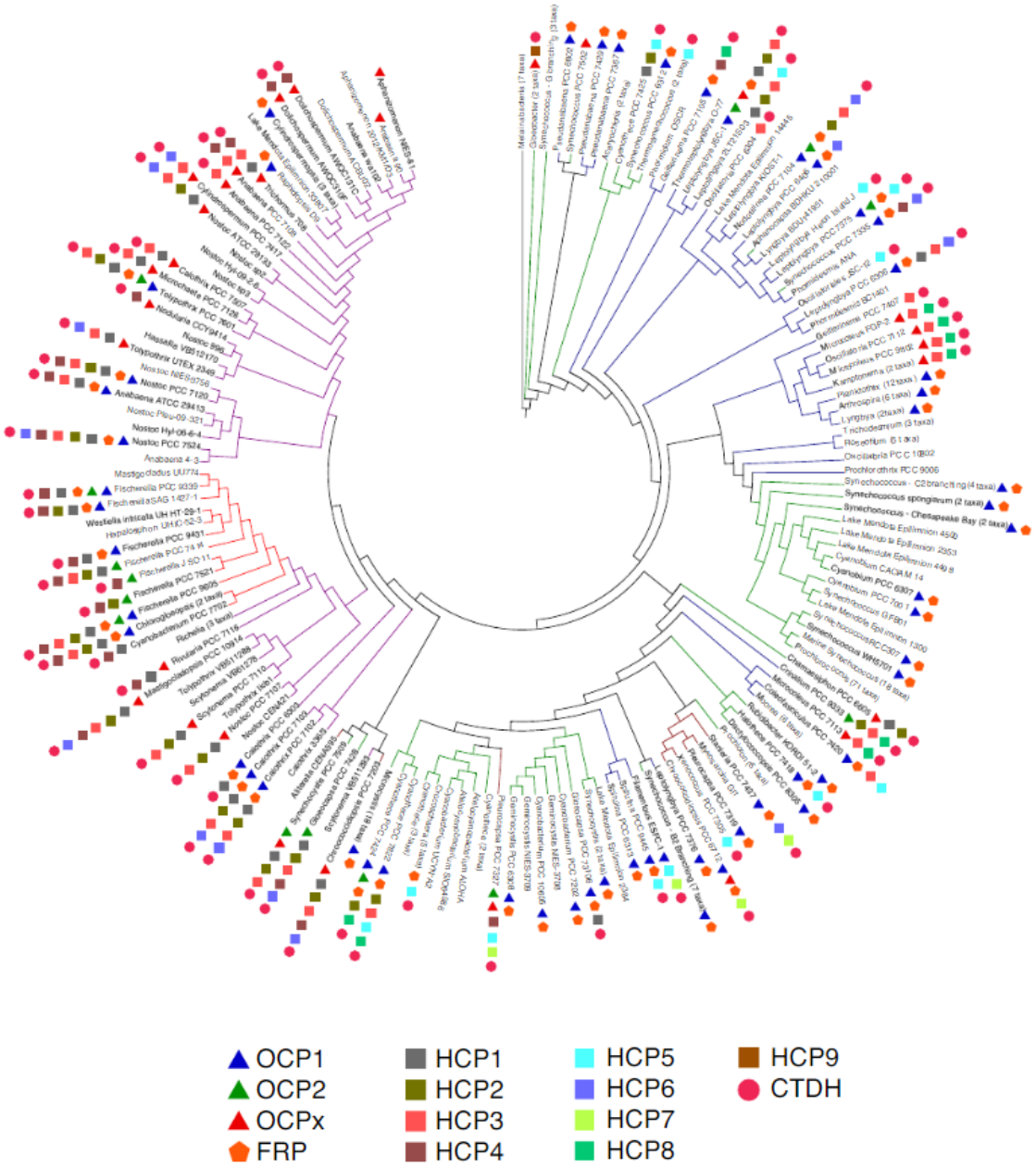


Figure 31| Phylogénie des cyanobactéries, sur le gène *RpoC1*, et la distribution des gènes relatifs à l'OCP et ses homologues. Les organismes ont été classé selon les cinq groupes morphologique de Rippka *et al.* (1979), comme indiqué par les couleurs de branches : I, vert ; II, marron ; III, bleu ; IV violet et V, rouge. Les *Synechococcus* possèdent l'OCP1 et la FRP (Bao *et al.* 2017).

Des activités de NPQ ont été mises en évidence chez plusieurs souches de *Synechococcus* marins et l'utilisation d'un anticorps anti-OCP a permis de détecter la protéine (Boulay *et al.* 2008). L'exploration des génomes de *Synechococcus* marins disponibles dans la base de données Cyanorak révèle en effet la présence des gènes codants pour l'OCP et la FRP chez 38 génomes parmi les 54 disponibles (Pittera 2015). L'étude de la région génomique de l'OCP a mis en évidence 3 gènes codants respectivement pour l'OCP, une β-carotène kétolase (qui serait impliquée dans la synthèse

d'un kéto-caroténoïde non identifié), et la FRP. Cette région, très conservée chez les souches qui possèdent l'OCP est entourée de zones génomiques très variables, suggérant que cet îlot génomique putatif aurait pu être transféré latéralement entre individus (Boulay *et al.* 2010).

La protéine PTOX

La protéine PTOX (Plastid Terminal Oxidase, aussi appelée IMMUTANS) est une enzyme présente chez beaucoup d'organismes capables de réaliser la photosynthèse oxygénique. Chez la plupart des cyanobactéries marines (McDonald *et al.* 2011), elle est retrouvée en conditions normales en faibles quantités dans les membranes thylacoïdiennes, du côté cytosol (Lennon *et al.* 2003). La protéine PTOX est analogue à l'oxydase alternative des mitochondries (Wu *et al.* 1999). Elle est impliquée dans la synthèse des caroténoïdes, dans le développement des plastes des plantes vasculaires mais également dans la photoprotection. En effet, cette protéine a été retrouvée dans de plus grandes concentrations chez certains végétaux vasculaires acclimatés à des conditions extrêmes, telles que des températures hautes ou basses, de fortes lumières ou des radiations UV (revue de Krieger-Liszkay and Feilke 2016). Elle catalyse l'oxydation du pool de PQH_2 couplée à la réduction de l'O_2 en H_2O lors de la photosynthèse. Elle joue donc un rôle de valve de sécurité en réoxydant les PQ réduites par l'activité du PSII et en transférant les électrons en excès vers l'oxygène (Figure 32). Elle est ainsi capable de réduire un excès d'électrons dans les voies photosynthétiques de transport linéaire des électrons.

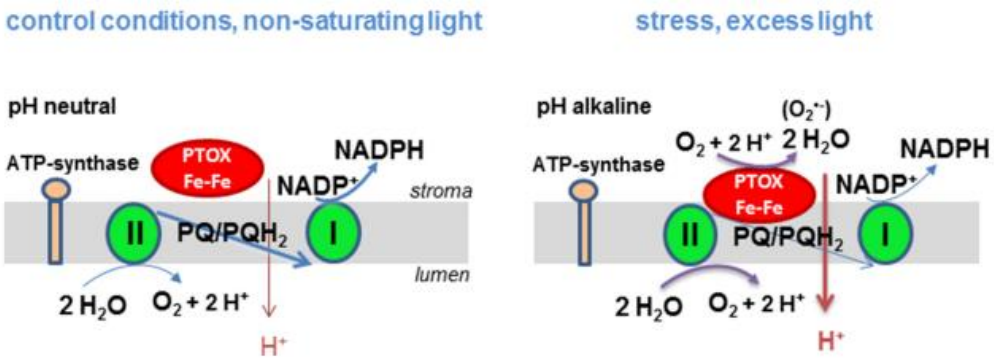


Figure 32| Modèle hypothétique du fonctionnement de régulation de l'activité de la protéine PTOX. Sous une lumière non saturante, le transport linéaire d'électrons entre les deux photosystèmes s'opère et un gradient de proton modéré est établi à travers la membrane thylakoïdiennee. La protéine PTOX ne peut pas fonctionner car elle n'a pas d'accès à son substrat, le plastoquinol. Aux intensités lumineuses saturantes, le transport linéaire des électrons est ralenti, et le gradient de protons et la concentration de plastoquinol augmentent. Le stroma/cytosol devient plus alcalin, ce qui permet à PTOX de s'associer à la membrane et de catalyser l'oxydation du plastoquinol. La production d'$O_2^{\bullet -}$ dans un côté la réaction peut déclencher une voie de signalisation ROS et par conséquent une réponse d'acclimatation au stress.

Une étude de la souche *Synechococcus* sp. WH8102 suggère que PTOX est aussi active chez les picocyanobactéries marines. Toutefois, l'inspection des génomes disponibles montre que le gène n'est présent que chez quelques souches de *Synechococcus* (Scanlan *et al.* 2009). Chez les *Prochlorococcus*, le gène codant pour cette protéine est assez divergent et est présent chez les écotypes *High Light* (voir ci-après), alors qu'il est rare chez les écotypes de profondeur, en accord avec le rôle présumé de photoprotection de cette protéine (McDonald *et al.* 2011).

Partie II.
L'adaptation des cyanobactéries marines aux variations de température des océans

II. 1. Facteurs de variations de la température des océans

Les radiations solaires reçues par l'océan sont pour moitié composées de rayons infrarouges, dont les longueurs d'onde sont supérieures à 700 nm. En interagissant avec les molécules d'H_2O et de CO_2, ils sont convertis en énergie calorifique et contribuent à faire de l'océan un immense réservoir de chaleur pour la planète. D'un point de vue global, la température moyenne des océans est d'environ 3,5°C mais plusieurs facteurs induisent de grandes variations, décrivant en réalité de vastes gradients et anomalies à ces gradients.

II. 1. 1. Variations verticales de la température

La profondeur à laquelle on se situe dans la colonne d'eau est le premier élément faisant varier sa température. L'océan est stratifié en trois couches thermiques distinctes qui constituent ainsi une sorte de gradient thermique discontinu (Figure 33). La couche de surface (aussi appelée couche de mélange, entre 0 et 200m) est la couche dont la température est la plus élevée puisque les premiers mètres des océans peuvent absorber autant de chaleur que toute la colonne d'air située au-dessus. Apparait ensuite la couche de thermocline (200 – 1000m), qui est la couche pour laquelle la température décroît le plus avec la profondeur, jusqu'à atteindre la zone profonde (au-delà de 1000 m), qui est la zone la plus froide et où les températures sont les plus homogènes, de l'ordre de 4°C en moyenne.

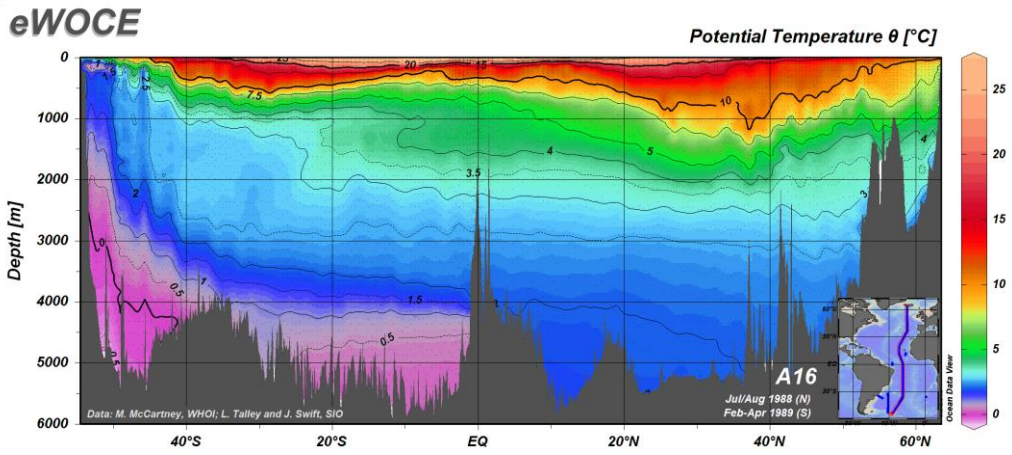


Figure 33| Relevé bathymétrique de distribution verticale de la température sur un transect latitudinal en Atlantique, de 60°N à 40°S, de juin 1988 à avril 1989 (source eWOCE.fr).

Les organismes photosynthétiques, pour capter l'énergie lumineuse dont ils ont besoin pour réaliser la photosynthèse, doivent rester dans la zone photique, c'est-à-dire dans les 100 à 200 premiers mètres selon la turbidité. Ils sont donc localisés dans les couches les plus chaudes de l'océan, qui sont aussi celles dont la température est la plus variable, car directement influencée par le rayonnement solaire et l'atmosphère. La température des eaux de surface est notamment très influencée par leur position latitudinale.

II. 1. 2. Variations latitudinales de température des eaux de surfaces

Parce que la Terre est quasiment sphérique, les radiations solaires incidents n'ont pas le même angle selon la latitude considérée. En effet, les rayonnements qui atteignent l'équateur ont un angle d'incidence plus grand et traversent une couche atmosphérique plus fine que ceux qui atteignent les plus hautes latitudes (Figure 34A). Ainsi, la quantité d'énergie qui atteint une même unité de surface diminue avec l'augmentation de la latitude.

L'utilisation de différents satellites qui mesurent les propriétés spectrales de l'eau de surface permettent d'en déduire la température exacte. L'eau a un comportement proche de celui d'un corps noir, *i.e.* un corps qui absorbe totalement les rayonnements de toute longueur d'onde mais qui n'émet de l'énergie que dans un domaine spectral qui ne dépend que de sa température, suivant la loi de Planck. Ainsi, la lumière émise par le satellite sur les océans induit une énergie réémise par l'eau proportionnelle à sa température. Il est donc possible de cartographier la température globale de la surface des océans (Figure 34B). Au niveau de l'équateur, l'eau dépasse généralement 30°C et peut même atteindre 36°C dans les eaux les plus chaudes de la planète, au

niveau du Golfe Persique. Aux niveaux des pôles, elle se situe entre 2°C et -1,8°C, cette dernière température étant le point de solidification de l'eau de mer. La température varie donc globalement sur la planète selon un gradient latitudinal, que Greenwood et Wing (1995) ont estimé à une perte de 0,4°C/latitude, depuis l'équateur jusqu'aux pôles.

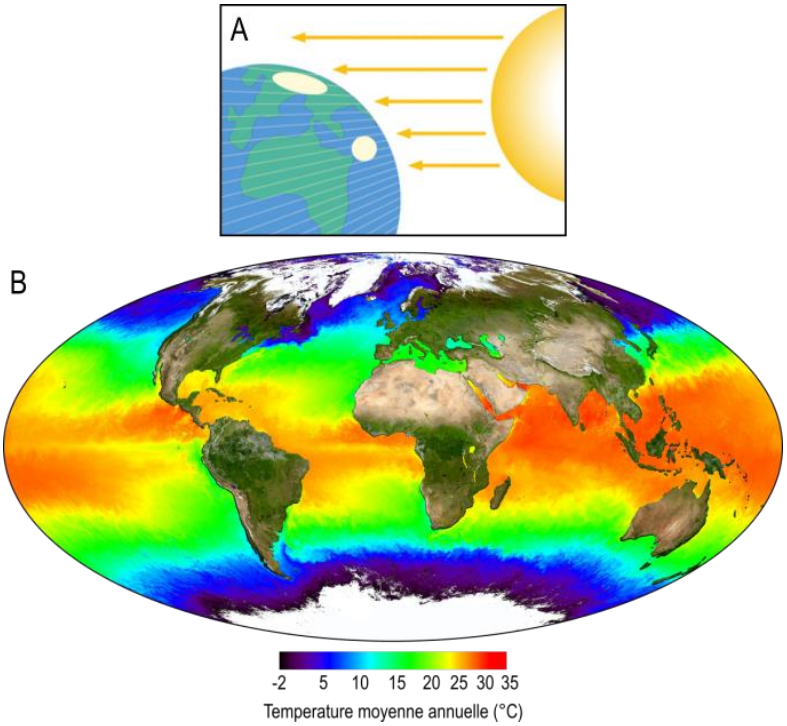


Figure 34| Schématisation des différents angles d'incidence des radiations solaires sur la planète et modélisation de la température de surface des océans A. Une même quantité d'énergie solaire arrivant ne sera pas absorbée par la même unité de surface. Les radiations impacteront une plus petite surface à l'équateur par rapport aux plus hautes latitudes et **B.** La visualisation de la température des océans au niveau global met en évidence le gradient latitudinal global de température sur la planète (Source National Oceanic and Atmospheric Administration).

II. 1. 3. Le cas particulier des upwellings

Il existe un certain nombre d'anomalies au gradient latitudinal de température dans les océans et l'un des exemples les plus probants est celui des zones d'*upwelling*. Ce sont des phénomènes océanographiques qui consistent en des remontées d'eau profonde froide, provoquées par les vents marins circulant tout autour du globe. Lors de soufflées, les vents poussent l'eau chaude de surface, provoquant le déplacement physique d'eaux profondes froides, souvent riches en sels nutritifs grâce à la minéralisation de la matière organique qui sédimente dans les fonds marins.

Ces remontées d'eau froide peuvent être de plusieurs types. Tout d'abord, au niveau des zones côtières, la force de Coriolis et les vents qui soufflent de la côte vers le large entraînent l'eau

chaude de surface et la remontée des eaux froides du fond. Le pompage d'Ekman peut également déclencher des remontées d'eaux froides. En effet, que ce soit un cyclone qui passe sur la côte ou en pleine mer ou des vents réguliers qui chassent les eaux de surface, la force de Coriolis poussent les courants vers le pôle Nord pour l'hémisphère nord et vers le pôle sud pour l'hémisphère sud. Ainsi, le vide laissé par les couches de surface aspire les eaux profondes en surface.

Parce qu'elles sont en partie dépendantes des vents qui trouvent leur origine dans la rotation de la Terre, les zones d'*upwelling* les plus marquées sont pour la plupart localisées à l'ouest des continents. Les plus remarquables sont situées sur les côtes du Pérou et du Chili ou encore sur la côte Ouest de l'Afrique (Figure 35). Ces zones constituent ainsi des anomalies au gradient latitudinal de température puisque ce sont des niches thermiques froides spatialement localisées à des latitudes où l'eau est normalement beaucoup plus chaude : par exemple pour l'upwelling du Chili, les relevés thermiques montrent une différence de température de 7°C entre la température au cœur de l'*upwelling* (17°C) et la température en dehors de ce dernier (24°C ; Reddin *et al.* 2015). Toutefois, par leur richesse en nutriments, les zones d'*upwelling* sont aussi le lieu privilégié d'efflorescences phytoplanctoniques conséquentes, qui donnent lieu à une production primaire importante.

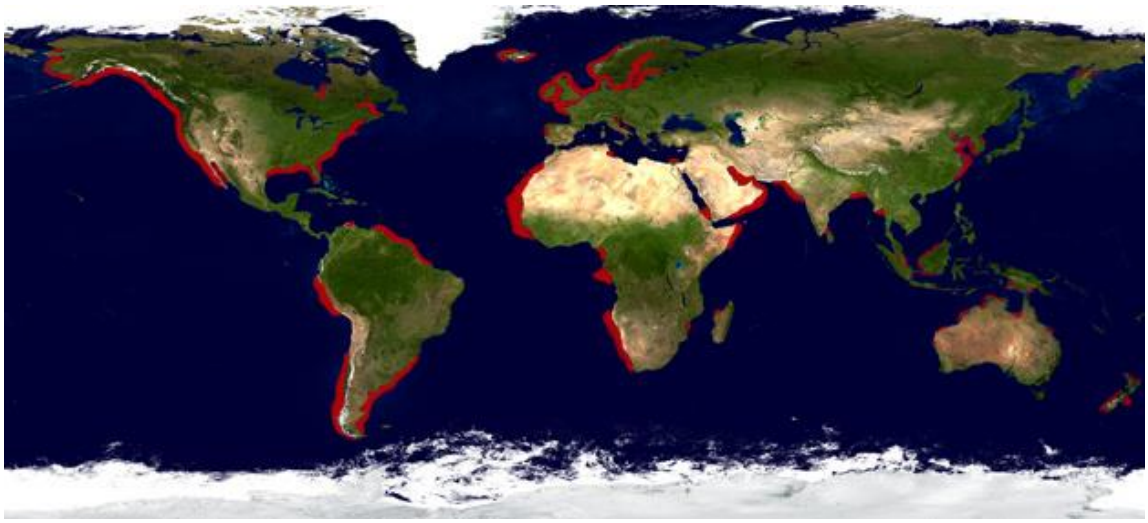


Figure 35| Carte mondiale des upwellings. Principalement concentrés sur les côtes, ces remontées d'eau froide apportent les nutriments nécessaires à l'apparition de blooms phytoplanctoniques (source greenseaupwelling.com).

II. 2. Un facteur primordial de la distribution des organismes

La biogéographie et l'écophysiologie sont des domaines particulièrement complémentaires car elles permettent la description de la distribution des organismes dans leur environnement d'une part, et l'étude des mécanismes physiologiques impliqués dans l'adaptation à cet

environnement (biotique et abiotique) d'autre part. Au fil des développements technologiques historiques, l'écophysiologie adaptative et les études globales de biogéographie se sont considérablement développées et ont permis de mettre en évidence différentes stratégies qu'ont adopté les organismes pour pouvoir conquérir une niche écologique donnée et y être compétitifs.

Dans l'étude des réponses physiologiques des organismes à leur niche écologique, on différencie classiquement deux notions importantes : l'acclimatation et l'adaptation. L'acclimatation, en lien avec la plasticité physiologique, est le fait qu'un organisme puisse répondre dynamiquement à un changement de son environnement, par exemple abiotique. Ces réponses ont généralement lieu sur des échelles de temps courtes, inférieures à la durée de vie de l'organisme, et sont réversibles. L'adaptation est, quant à elle, considérée sur des échelles de temps évolutives, intimement liée à des différences plus ou moins profondes de la composition du génome des individus et impliquant donc des fonctions physiologiques héritables non réversibles. Acclimatation et adaptation augmentent toutes deux l'adéquation d'un organisme avec son environnement afin qu'il y soit plus compétitif (Hopkins and Évrard 2003), mais à des échelles de temps différentes. Des organismes adaptés à des environnements différents présenteront ainsi des capacités d'acclimatation différentes aux paramètres de ces environnements.

II. 2. 1. Différenciation écotypique au sein du picophytoplancton

Parmi le picophytoplancton, certains organismes ont développé au cours de l'évolution des lignées génétiquement distinctes (clades) ayant mis au point des adaptations écophysiologiques particulières leur permettant de conquérir certaines niches écologiques. Ces lignées phylogénétiques habitant des environnements différents, spécialisées physiologiquement dans la gestion des paramètres les plus contraignants de leur niche, sont communément appelées « écotypes » par les phytoplanctonologues (Coleman and Chisholm, 2007).

a. *Un modèle marin de de différenciation écotypique cyanobactérien :* Prochlorococcus

Le modèle de différenciation écotypique phytoplanctonique le mieux connu est indéniablement celui de la cyanobactérie *Prochlorococcus*, dont la radiation a divergé au cours de l'évolution de celle des *Synechococcus* marins, en formant deux écotypes principaux: un écotype de forte lumière (*High Light*, HL) qui a colonisé les eaux de surface, et un écotype de faible lumière (*Low Light*, LL) présent dans le bas de la zone photique (Biller *et al.* 2014 ; Moore *et al.* 1995 ; Johnson *et al.* 2006 ; Zinser *et al.* 2006 ; Garczarek *et al.* 2007). Cette distribution repose sur un panel d'adaptations physiologiques aux variations d'intensité lumineuse en lien avec des

preferenda lumineux différents (Figure 36). En effet, un certain nombre d'études de physiologie ont permis de mieux comprendre la façon dont les écotypes gèrent les différences d'éclairement dans leur niche respective. Par exemple, il a été montré que les écotypes de profondeur présentent une pigmentation particulière et des taux photosynthétiques très différents des écotypes de surface (Moore *et al.* 1995; Moore *et al.* 1997; Moore and Chisholm 1999). D'autres études ont montré que certains écotypes de profondeur utilisent des antennes photosynthétiques particulièrement efficaces, grâce à des duplications des gènes, alors que les souches de surfaces ont des antennes de taille modeste (Garczarek *et al.* 2000, 2001 ; Bibby *et al.* 2003 ; Garczarek *et al.* 2007 ; Partensky and Garczarek 2010). Ces dernières souches sont bien équipées en protéines HLIP et en photolyases, permettant la photoprotection en réponse aux éclairements élevés et aux ultraviolets (Rocap *et al.* 2003 ; Scanlan *et al.* 2009 ; Osburne *et al.* 2010).

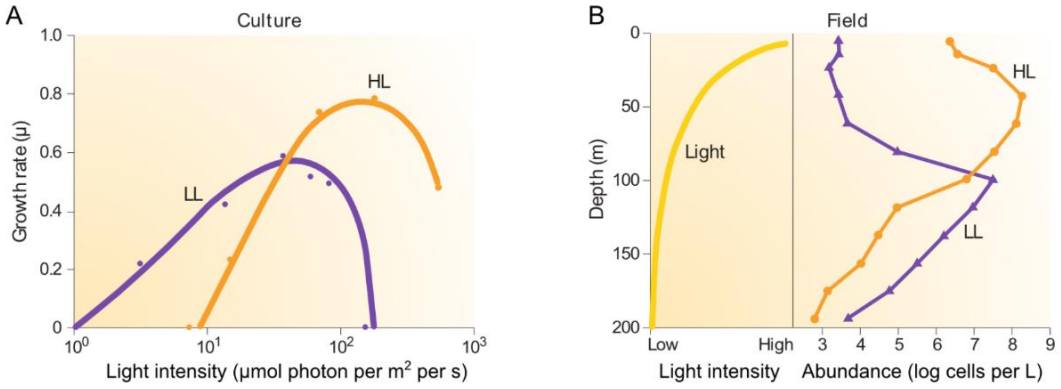


Figure 36| A. Taux de croissance (jour^{-1}) en fonction de l'intensité lumineuse de croissance, mesurés en laboratoire, chez deux souches de *Prochlorococcus* représentatives des deux écotypes de lumière High Light (HL) et Low Light (LL). La croissance de l'écotype LL est photoinhibée à l'intensité lumineuse à laquelle l'écotype HL atteint son taux de croissance optimal, alors que ce dernier ne peut se diviser à des intensités lumineuses où l'écotype de profondeur montre une croissance significative. **B. Distribution des deux écotypes de lumière de *Prochlorococcus* sur un gradient vertical de profondeur.** L'écotype HL domine la partie supérieure de la colonne d'eau et est progressivement replacé par l'écotype LL (d'après Biller *et al.* 2014).

La température a aussi joué un rôle dans la différenciation écotypique de *Prochlorococcus*. L'écotype de lumière de surface, est subdivisé en 6 sous clades (HLI à HLVI ; Huang *et al.* 2012). Il a été montré par des études en laboratoire couplées à des données *in situ* que certains de ces sous-clades sont inféodés à des environnements thermiques particuliers. En effet, l'étude de leur *preferenda* thermiques a montré que ces écotypes ont des températures optimales de croissance similaires, mais que les écotypes HLI ont une gamme de température de croissance décalée dans de plus basses températures par rapport aux écotypes HLII (Figure 37A). Ces résultats obtenus en laboratoire sont en accord avec les données in situ de distribution de ces deux écotypes le long du gradient latitudinal terrestre de température (Figure 37B ; Johnson *et al.* 2006 ; Biller *et al.* 2014 ;

Malmstrom *et al.* 2010). Les adaptations physiologiques qui sous-tendent ces processus des spécialisation dans des niches thermiques données restent encore inconnues.

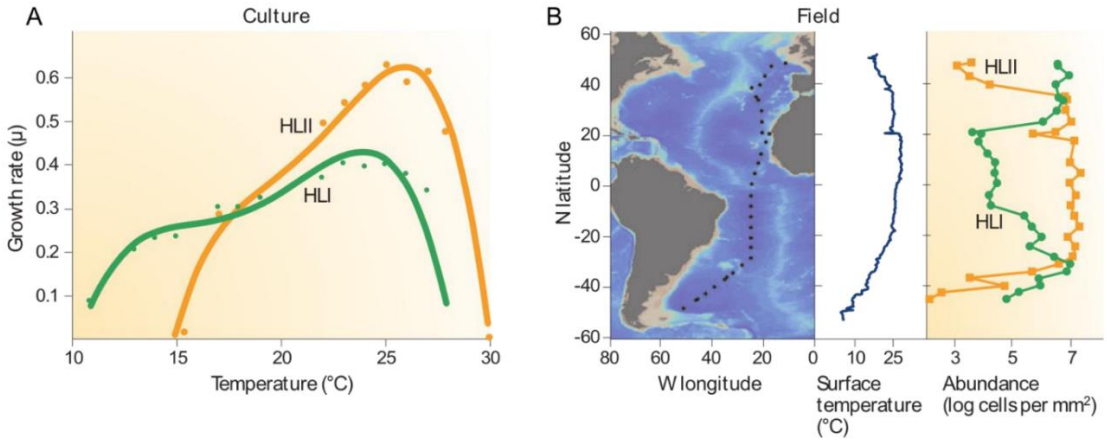


Figure 37| A. *Preferenda* thermiques des écotypes de *Prochlorococcus* HLI (High Ligh I) et HLII (High Light II) mesurés en laboratoire. Les limites thermiques de croissance sont clairement différenciées. **B. Distribution des deux écotypes HLI et HLII le long d'un transect latitudinal en Atlantique.** HLI est retrouvé dans les eaux plus froides que HLII, concentré majoritairement au niveau de l'équateur (d'après Biller *et al.* 2014).

De nombreuses zones d'ombre demeurent au sujet des autres sous-clades connus de *Prochlorococcus*. Par exemple, les sous-clades HLIII-VI n'ont pas de représentants en culture et sont appelés « HL » uniquement sur la base de leur position phylogénétique. La distribution des clades HLIII-VI suggèrent que ces sous-écotypes sont peut-être spécialisés dans des eaux aux compositions particulières telles que la pauvreté en fer (Huang *et al.* 2012 ; Biller *et al.* 2014). En milieu oligotrophe, la croissance des organismes photosynthétiques est souvent limitée par la disponibilité en sels nutritifs majeurs comme l'azote et le phosphore. Les lignées HL de *Prochlorococcus*, abondantes en milieu oligotrophes, ont réduit la quantité d'azote dans leur protéome par rapport aux cellules retrouvées en milieux côtiers, plus riches en sels nutritifs (Dufresne *et al.* 2005 ; Biller *et al.* 2014) afin de s'adapter à la carence en azote.

Actuellement, on conceptualise les populations naturelles de *Prochlorococcus* comme des ensembles de cellules aux capacités adaptatives différentes (*i.e.* des écotypes) dont les proportions reflètent en quelque sorte les paramètres environnementaux les plus marqués de la niche écologique considérée (Kashtan *et al.* 2014). Les écotypes d'une population peuvent ainsi être divisés en sous-groupes possédant des adaptations à des pressions environnementales différentes. Les variations environnementales sélectionnent ainsi les écotypes et assurent le maintien de la méta-population. Ce caractère combinatoire des caractéristiques écotypiques est un élément probablement primordial de la robustesse et de la résilience des populations naturelles de

Prochlorococcus dans le temps et dans l'espace, car il fournit un grand réservoir de traits écologiques que l'environnement sélectionne (Biller *et al.* 2014).

b. Le cas des Synechococcus

La radiation des *Synechococcus* marins, plus ancienne que celle des *Prochlorococcus*, comprend 3 sous-clusters (5.1, 5.2, et 5.3) et la majorité des souches purement marines sont réparties parmi la vingtaine de clades du sous-cluster 5.1, eux-mêmes divisés en 31 sous-clades (Farrant *et al.* 2016). Cette importante diversité génétique constitue un véritable frein au développement et à la compréhension des études comparées de leur physiologie et de leur biogéographie, qui sont par conséquent aujourd'hui beaucoup moins bien caractérisées que chez *Prochlorococcus*. A ce jour, aucune étude n'a encore mis en évidence de différenciation écotypique selon le gradient de lumière lié à la profondeur chez les *Synechococcus* marins, comme chez *Prochlorococcus*.

Parmi les premières études de physiologie comparée, celles concernant l'adaptation aux variations de qualité spectrale de la lumière ont permis de révéler tout un pan de la diversité fonctionnelle de la photophysiologie des *Synechococcus* marins (voir « L'antenne externe collectrice de lumière : le phycobilisome »). Toutefois, si on replace les différents types pigmentaires de *Synechococcus* marins dans une phylogénie générale de ces organismes, on s'aperçoit que les souches utilisant un même type de phycobilisome peuvent être dispersées dans des clades éloignés (Figure 38). Ceci montre que les types pigmentaires ne se sont pas élaborés primordialement de façon verticale durant l'évolution. Dans ce sens, les types pigmentaires ne constituent donc pas des écotypes *sensu stricto* car ils ne correspondent pas à des lignées phylogénétiques spécifiques (Coleman and Chisholm, 2007). Plusieurs études suggèrent en effet que les échanges de matériel génétique par des transferts horizontaux, par exemple entre cellules ou *via* des infections virales, a probablement joué un rôle important dans l'évolution de ces adaptations photophysiologiques.

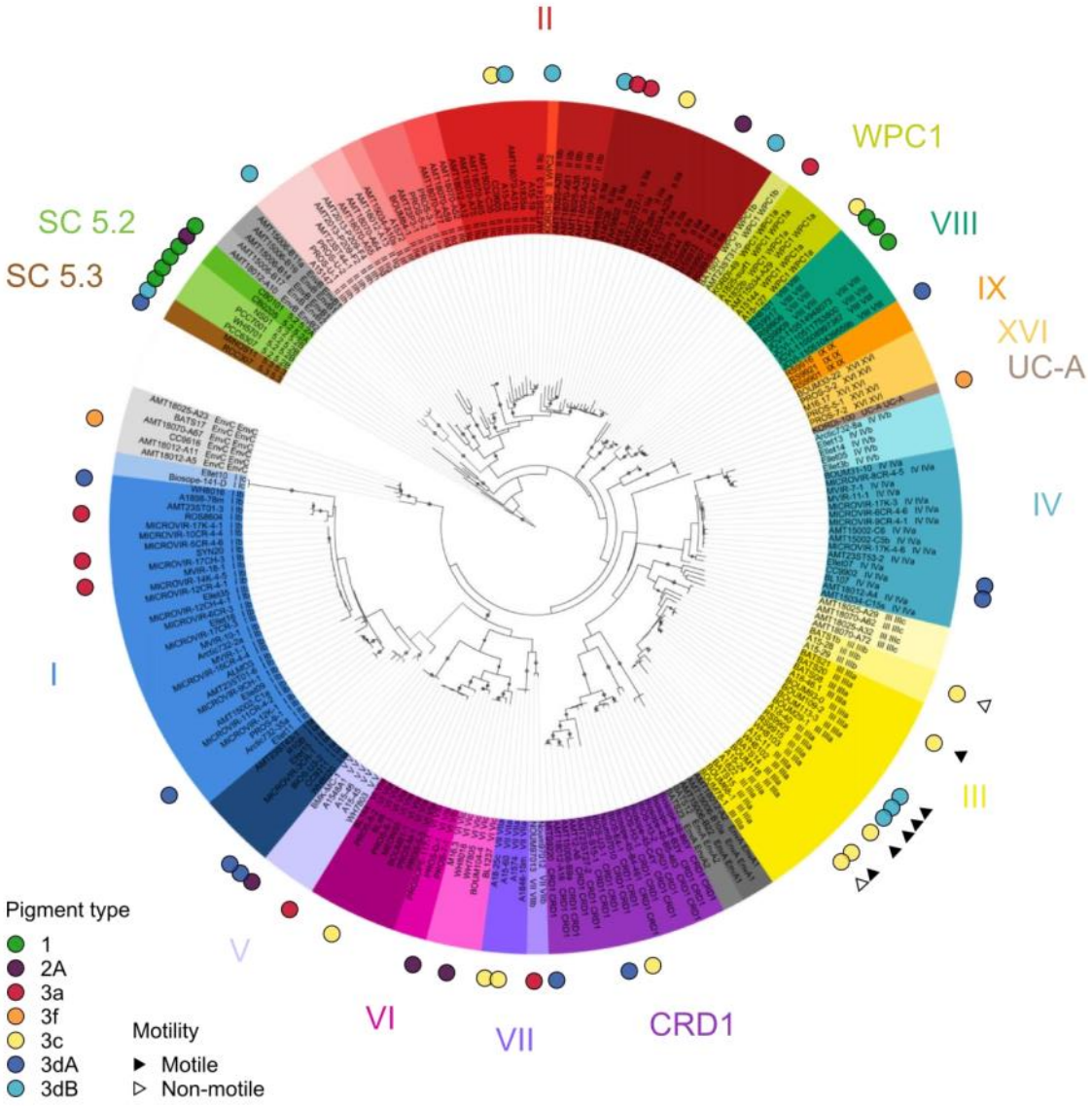


Figure 38| Position phylogénétique des types pigmentaires de *Synechococcus* marins. L'arbre est construit à l'aide de 230 séquences du gène *pet*B selon la méthode du maximum de vraisemblance. Les cercles noirs représentent les valeurs de bootstrap supérieures à 70%. Les types pigmentaires sont représentés par des cercles de couleurs à l'extérieur de la phylogénie (Garczarek, comm. pers.)

Un exemple assez évident de différenciation écotypique chez les *Synechococcus* marins est celui du clade VIII du cluster 5.1, car les souches de cette lignée sont toutes très différentes des autres. Tout d'abord, elles ont toutes été isolées dans des environnements littoraux et présentent généralement une remarquable tolérance vis-à-vis des variations de salinité. Elles possèdent pour la plupart d'entre elles une pigmentation de type 1, c'est-à-dire un phycobilisome dont les bras sont composés uniquement de C-PC (Fuller *et al.* 2003). Enfin, les génomes de ces souches présentent de nombreuses similarités avec les souches de cyanobactéries d'eau douce. Ce faisceau d'informations suggère fortement que le clade VIII du sous-cluster 5.1 forme un écotype

particulièrement différencié, spécialisé dans les environnements côtiers à salinité variable. Ces souches ont toutefois été assez peu étudiées et il reste probablement beaucoup à apprendre quant aux mécanismes évolutifs qui ont permis la différenciation aboutie du clade VIII au sein du sous-cluster 5.1.

Les sels nutritifs constituent généralement une pression environnementale majeure influençant fortement la physiologie et la distribution du phytoplancton. De récentes études ont montré que les clades CRD1 et EnvB sont apparemment compétitifs dans les zones océaniques présentant de faibles concentrations en fer (Figure 39, Ahlgren *et al.* 2014 ; Saito *et al.* 2005 ; Huang *et al.* 2012 ; Farrant *et al.* 2016), et pourraient constituer des écotypes de la limitation en fer.

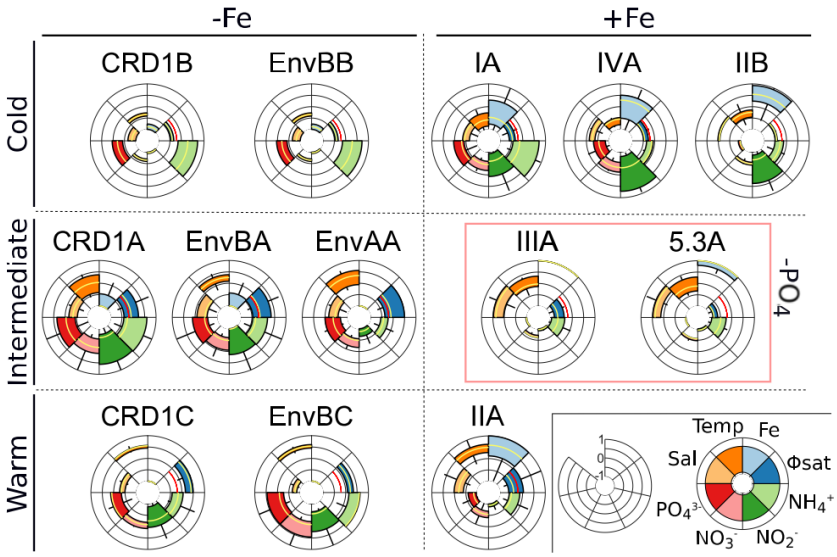


Figure 39| Représentations des niches environnementales des ESTUs (Ecologically Significant Taxonomic Units) majeurs de *Synechococcus* dans les eaux de surface. Pour chaque ESTU, les stations ont été normalisées par leur abondance, et uniquement les stations qui cumulent 80% de l'abondance totale ont été utilisées pour le graphe. Les boxplots représentent la gamme de chaque paramètre (en unité relative). Les ESTUs sont organisés selon leur gamme de température relative (froid, tempéré, chaud pour *Cold*, *Interrmediate* et *Relative*), pour leur tolérance à la limitation en fer (-Fe, +Fe) et à la limitation en phosphate (-PO_4) (d'après Farrant *et al.* 2016)

Un autre type de différenciation écotypique, qui concerne un grand nombre de souches de *Synechococcus* marins, a été mis en évidence. Depuis 2007, un certain nombre d'études de la distribution géographique des clades (phylogéographie) de *Synechococcus* marins ont été menées. Ces études montrent que les principales lignées dominant les communautés de *Synechococcus* marins (*i.e.* I, II, III, IV) habitent des environnements assez spécifiques (Figure 40). Les clades I et IV sont distribués dans les zones côtières mésotrophiques, le plus souvent en eaux tempérées à subpolaires (Ahlgren and Rocap 2012 ; Zwirglmaier *et al.* 2007, 2008 ; Paulsen *et al.* 2016 ; Sohm *et al.* 2016). Les cellules des clades II et III sont généralement détectées dans des environnements en

moyenne plus chauds. Les cellules du clade II habitent des eaux tropicales et subtropicales (Fuller *et al.* 2003 ; Zwirglmaier *et al.* 2008) et le clade III est généralement détecté dans des eaux chaudes oligotrophes, en particulier la Mer Méditerranée et le Golfe du Mexique (Zwirglmaier *et al.* 2008 ; Mella-Flores *et al.* 2011 ; Ahlgren and Rocap 2012; Farrant *et al.* 2016).

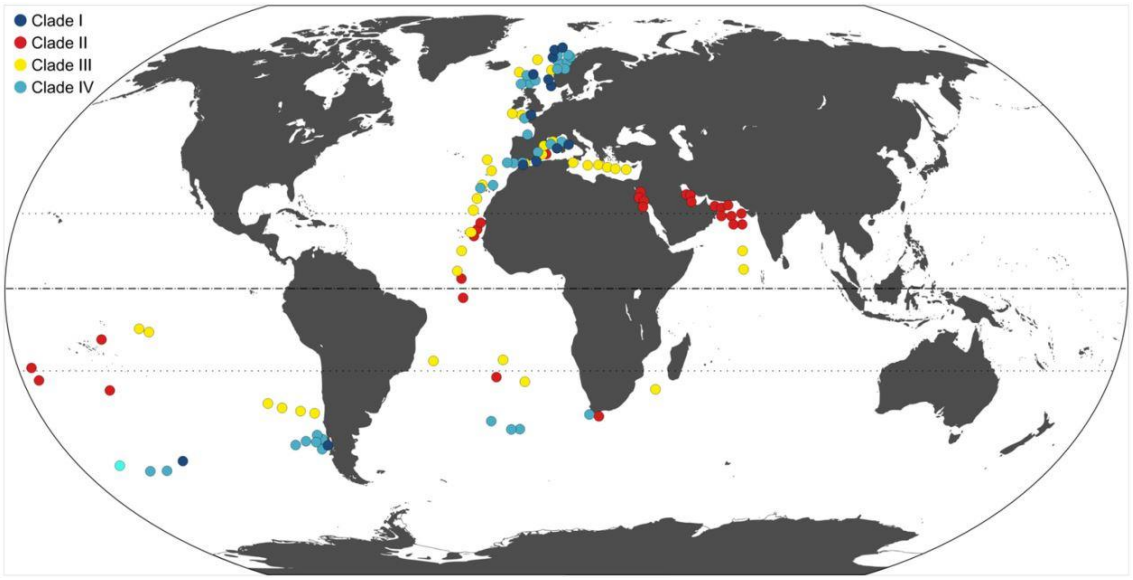


Figure 40| Distribution des clades I, II, III et IV de *Synechococcus* marins, qui dominent généralement les communautés naturelles. Clade I : bleu foncé, Clade II : rouge, Clade III : jaune et Clade IV : bleu ciel (Pittera 2015)

La différence de niche thermique entre les clades I et IV d'une part, et II et III d'autre part, est particulièrement apparente lorsque, par exemple, on compile des paramètres de température de l'eau de mer aux sites d'isolement d'un certain nombre de souches de laboratoire (Figure 41, Pittera *et al.* 2014). On constate ainsi que les souches des clades I et IV ont été isolées dans des eaux dont la température moyenne et d'environ 15°C, alors que les souches des clades II et III ont généralement été isolées dans des eaux à environ 24°C en moyenne.

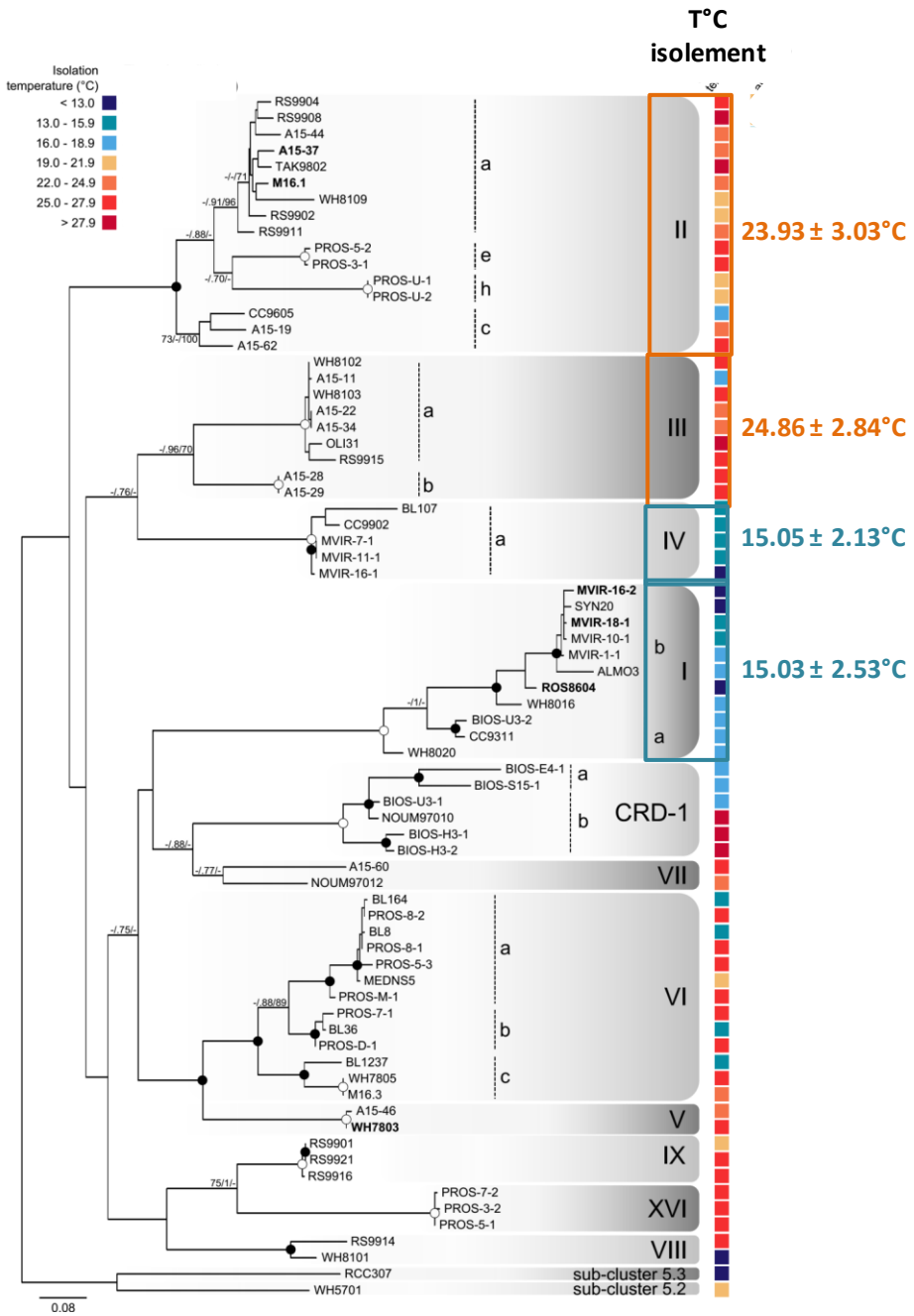


Figure 41| Analyse phylogénétique par maximum de vraisemblance du gène *petB* de 74 isolats de *Synechococcus* marins en culture, montrant les différents clades du sous-cluster 5.1, associés aux températures d'isolement des souches, d'après les données satellite. Les souches du clade I et du clade IV se démarquent par leurs températures d'isolement plus basses (Pittera *et al.* 2014)

L'étude des *preferenda* thermiques de souches représentatives du clade I (subpolaire) et II (tropical) a permis de mettre en évidence une spécialisation physiologique globale aux niches thermiques distinctes (Figure 42A ; Moore *et al.* 1995 ; Zwirglmaier *et al.* 2007; 2008 ; Mackey *et al.* 2013 ; Pittera *et al.* 2014 ; Varkey *et al.* 2016). Il a ainsi été montré que les souches du clade I, présentent des *optima* de croissance à des températures beaucoup plus froides que celles du clade

II, avec des limites thermiques de croissance clairement décalées vers les basses températures (Figure 42B). Puisque ces deux lignées habitent des niches thermiques différentes et présentent une spécialisation physiologique à ces niches, elles sont considérées comme des écotypes de température distincts (Pittera *et al.* 2014).

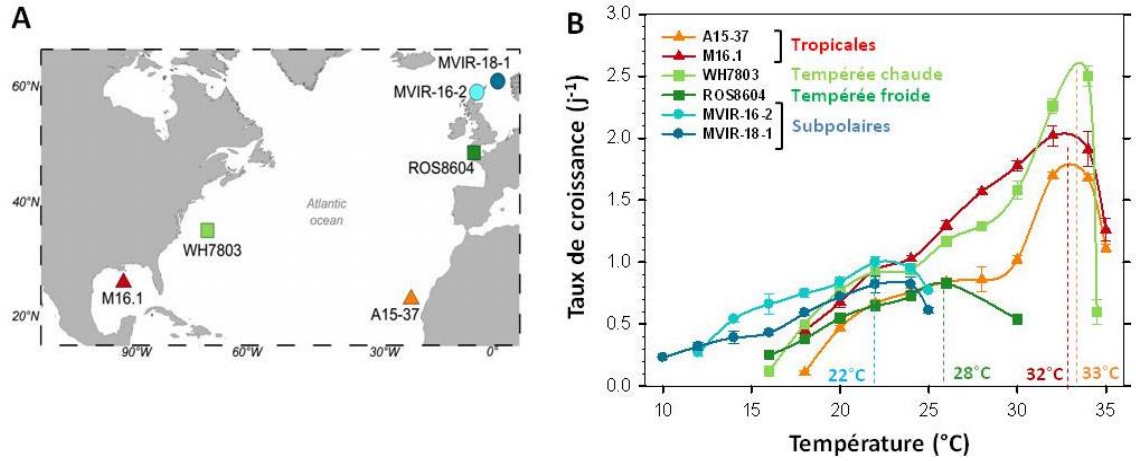


Figure 42| A. Localisation des sites d'isolement et B. Taux de croissance en fonction de la température de croissance pour six souches de *Synechococcus* marins utilisées dans l'étude de Pittera *et al.* (2014) : tropicales (triangles), tempérées (carrés) et hautes latitudes (ronds). A15-62 et M16.1 appartiennent au clade II, ROS8604, MVIR-16-2 et MVIR-18-1 au clade I.

Quelques études ont permis de commencer à comprendre certaines des bases physiologiques qui sous-tendent la spécialisation des *Synechococcus* marins dans des niches thermiques différentes. Parmi celles-ci, les expériences de « *Cold shock* » ont notamment permis de mettre en évidence les adaptations du processus de photosynthèse aux différentes niches thermiques. Ainsi, lorsqu'on impose un « challenge thermique » à différents écotypes en les soumettant brutalement à une chute de température d'une dizaine de degrés, on constate que les souches réagissent en fonction de leur latitude d'isolement, avec les souches de basse latitude subissant une rupture du couplage des phycobiliprotéines dans le phycobilisome qui se dégrade progressivement au cours du stress, une photoinactivation du photosystème II avec dégradation progressive de la protéine D1 (Figure 43B, Pittera *et al.* 2014). Les analyses pigmentaires ont mis en évidence chez les souches de basse latitude une destruction rapide du β-carotène, une molécule des CR des PS à rôle antioxydant, suggérant l'induction d'un stress oxydatif important chez les écotypes d'environnements chauds. Les souches représentatives des écotypes d'environnement froids ont pu s'adapter facilement aux nouvelles conditions et ont continué leur croissance jusqu'à la phase stationnaire (Figure 43A, C). Des études de protéomique globale sur cultures acclimatées ont donné des résultats similaires (Varkey *et al.* 2016).

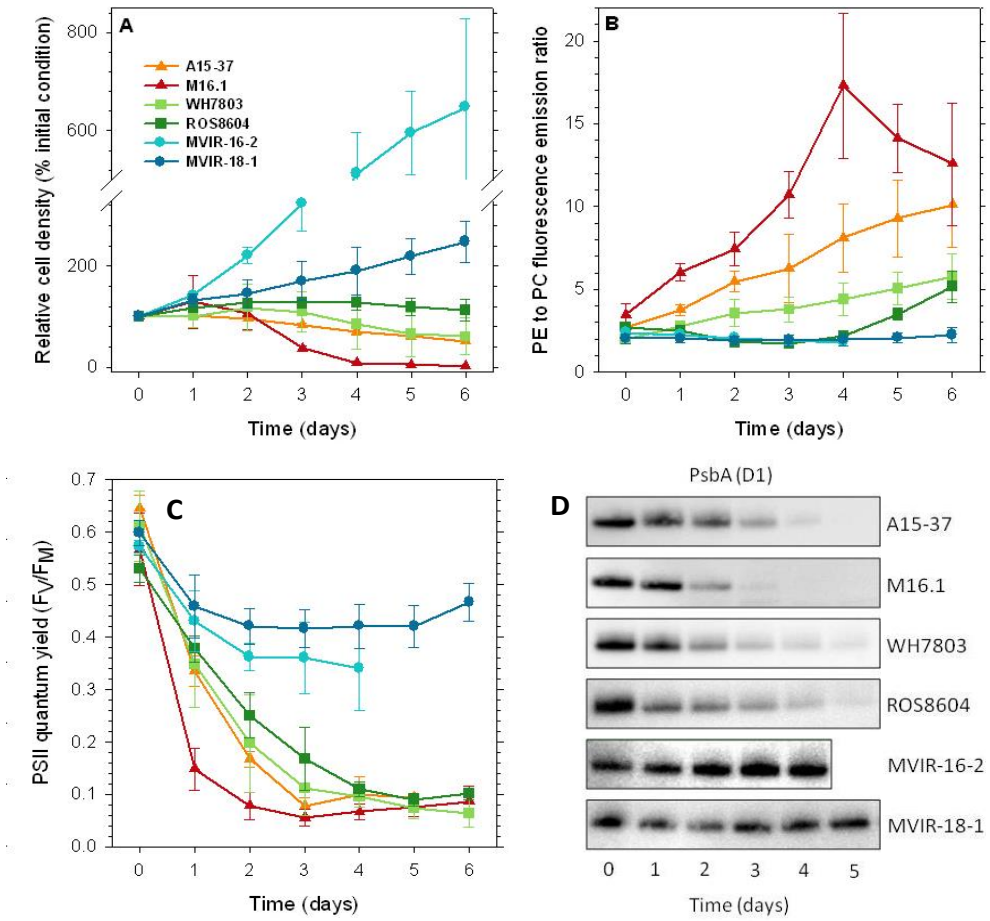


Figure 43| Variations de la densité cellulaire (A), du couplage des phycobiliprotéines (B ; spectropfluorimétrie), de l'efficacité du photosystème II (C ; fluorimétrie PAM) et du contenu en protéine D1 par protéines totales (D ; immunoblot), dans des cultures de 6 souches de *Synechococcus* marins, isolées le long d'un gradient latitudinal de température. D'après Pittera *et al.* (2014)

Une étude récente a démontré que les adaptations du processus de photosynthèse à différentes niches thermiques reposent en partie sur des adaptations moléculaires de l'antenne photosynthétique principale, le phycobilisome. La température est capable de considérablement modifier la conformation d'une protéine et par conséquent d'en altérer son fonctionnement. Dans une certaine gamme de température, ces modifications sont réversibles grâce à la flexibilité moléculaire de la protéine. En revanche, une température excessive conduit inévitablement à la dénaturation de la protéine, qui se replie différemment de façon irréversible et devient inactive. En comparant la thermostabilité fonctionnelle (*in vivo*) et structurale (*in vitro*) des phycobilisomes de plusieurs souches représentatives de différents écotypes de température, Pittera et collaborateurs suggèrent que des mutations spécifiques des sous-unités de phycobiliprotéines permettent de moduler le rapport flexibilité/stabilité de ces dernières afin de permettre une optimisation de la capture de la lumière dans une niche thermique donnée (Figure 44, Pittera *et al.* 2017).

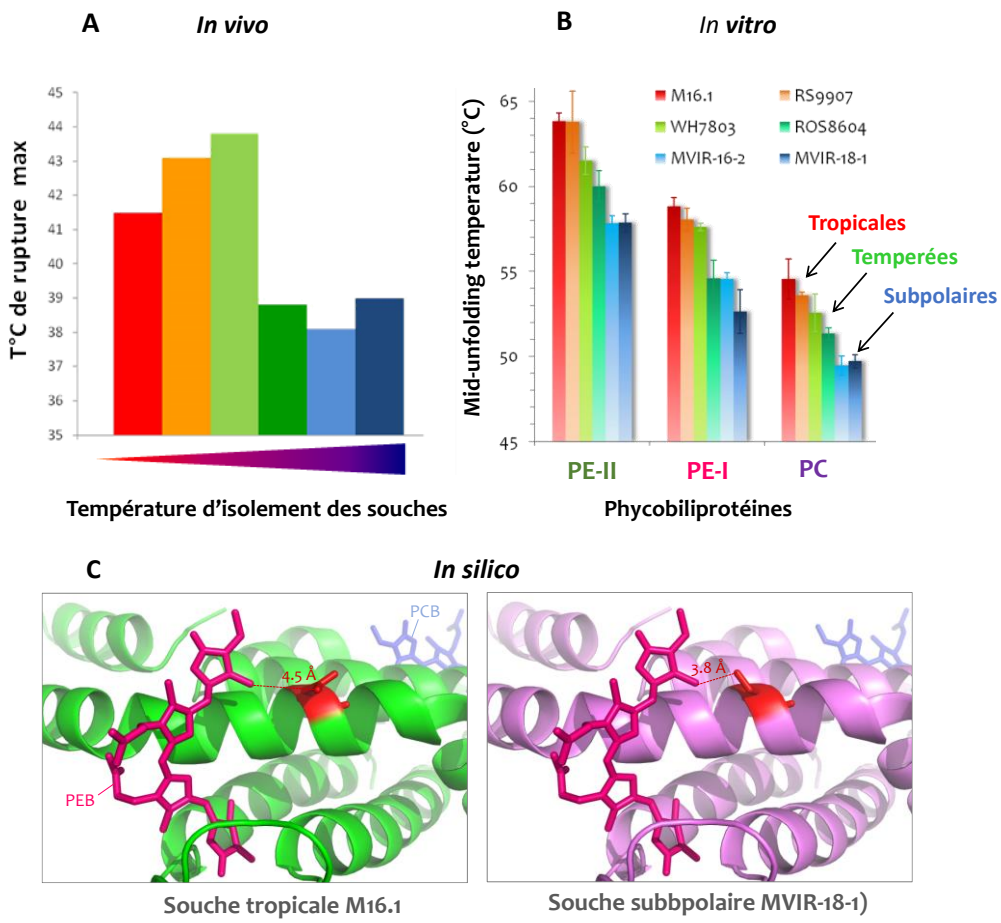


Figure 44| Adaptation du phycobilisome chez 6 souches de *Synechococcus* marins à différentes niches thermiques. (A) Température maximale de rupture de la fonction du phycobilisome chez différentes souches. Ces expériences de thermostabilité *in vivo* des phycobilisomes montrent qu'ils sont plus stables chez les écotypes d'environnements chauds, **(B) Température de demi-dénaturation des phycobiliprotéines du bras des phycobilisomes chez différentes souches.** Ces mesures de thermostabilité *in vitro* des phycobiliprotéines purifiées montrent que ces dernières sont aussi plus stables chez les écotypes d'environnements chauds, **(C) Modèles structuraux (*in silico*) de phycocyanine montrant en rouge une des deux mutations (sous-unité β-42 : Asn -> ser) prédites pour jouer un rôle dans l'augmentation de la flexibilité de cette phycobiliprotéine chez les écotypes d'environnements froids** (Adapté de Pittera *et al.* 2017).

Si ces adaptations du phycobilisome ont très certainement joué un rôle important dans l'optimisation du processus de photosynthèse, elles ne sont très probablement qu'une des pièces du puzzle de la compréhension de l'adaptation de l'appareil photosynthétique entier à différentes niches thermiques. Comme nous allons le voir dans cette thèse, une des hypothèses intéressantes concerne les éventuels processus d'adaptation de la matrice lipidique dans laquelle sont insérées les protéines réalisant les photoréactions de la phase claire de la photosynthèse.

Partie III. Réponse des membranes cyanobactériennes à la température

III. 1. Le système membranaire cyanobactérien

III. 1. 1. Structure générale et rôles biologiques

Chez les *Synechococcus* marins, comme chez tous les organismes vivants, les membranes délimitent la cellule, les compartiments cellulaires et sont le siège de réactions indispensables à l'ensemble du métabolisme, telles que le transport de diverses molécules, la respiration ou encore la photosynthèse. Ce sont des matrices lipidiques dans lesquelles sont insérés les complexes protéiques essentiels à la cellule. Comme chez toutes les bactéries Gram-, trois systèmes membranaires distincts sont présents chez les cyanobactéries (Omata and Murata 1984): la membrane externe et la membrane cytoplasmique qui délimitent la cellule et constituent l'enveloppe cellulaire, et les membranes thylacoïdiennes qui délimitent l'espace luminal (le lumen) et qui contiennent l'appareil photosynthétique (pour rappel, voir « I.2.2 Morphologie et ultrastructure », Stanier and Cohen-Bazire 1977). Ces membranes ont une structure classique en bicouche lipidique (Figure 45A) et les lipides qui la constituent sont composés de deux acides gras apolaires estérifiés sur les fonctions alcool primaire et secondaire des carbones 1 et 2 d'une molécule de glycérol. Ces deux positions sont respectivement appelés *sn*-1 et *sn*-2 (*Stereospecific Number*). Le carbone 3 du glycérol (*sn*-3) peut lier divers groupements constituant la tête polaire des lipides membranaires, par opposition aux acides gras dont la chaîne aliphatique constitue la partie apolaire de la molécule (Figure 45B).

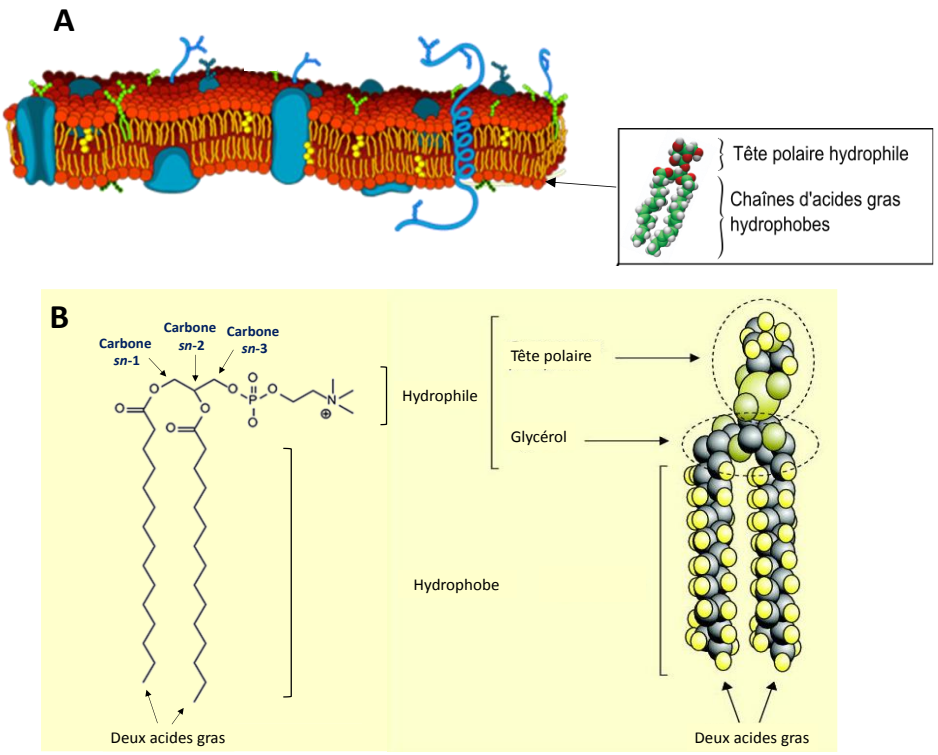


Figure 45| A. Représentation de la bicouche lipidique des membranes biologiques, avec les protéines et les sucres qui y sont insérés et B. Exemple de structure d'un lipide membranaire (phosphatidylcholine). L'encart représente un lipide amphiphile, constituant élémentaire de la bicouche. Il comprend i) une tête hydrophile fixée en position *sn*-3 d'une molécule de glycérol et interagissant avec le milieu aqueux, ii) deux chaînes d'acides gras hydrophobes fixés en position *sn*-1 et *sn*-2 de la molécule de glycérol et interagissant avec les acides gras des lipides de l'autre feuillet (source : wikipedia.org).

La membrane externe des cyanobactéries est souvent recouverte d'une couche de polysaccharides appelée glycocalix, qui la protège en constituant un environnement hydrophile à la surface de la cellule. Chez les cyanobactéries habitant des milieux terrestres, cette couche de polysaccharides protégerait les cellules de la dessiccation et du gel (Tamaru *et al.* 2005), alors qu'en milieu aqueux, elle serait impliquée dans la séquestration d'éléments nutritifs (Gantt 1994). La membrane externe contient de nombreux canaux de transports tels que les porines, facilitant le passage de petites molécules dans le milieu intracellulaire. Chez les cyanobactéries d'eau douce, on peut y trouver des pigments tels que l'échinénone, la zéaxanthine, la myxoxanthophylle ou le β-carotène (Jurgens and Weckesser 1985 ; Omata and Murata 1984). Un espace périplasmique sépare la membrane externe de la membrane cytoplasmique, dans lequel se trouve une couche de peptidoglycanes, qui donnent, en relation avec la pression osmotique, sa forme à la cellule. Sous cette couche de peptidoglycanes prend place la membrane cytoplasmique. Elle est également riche en canaux de transports et peut contenir de petites quantités de xanthophylles et de β-carotène (Omata and Murata 1984). On pense que plusieurs points de connexion existent entre cette membrane et les thylakoïdes, et plusieurs travaux sur la composition de la membrane

cytoplasmique ont démontré la présence de précurseurs de chlorophylle et de protéines constitutives de l'appareil photosynthétique (Zak *et al.* 2001 ; Nickelsen and Rengstl 2013), qui suggèrent que cette membrane joue un rôle prépondérant dans la synthèse des complexes protéiques photosynthétiques (Figure 46).

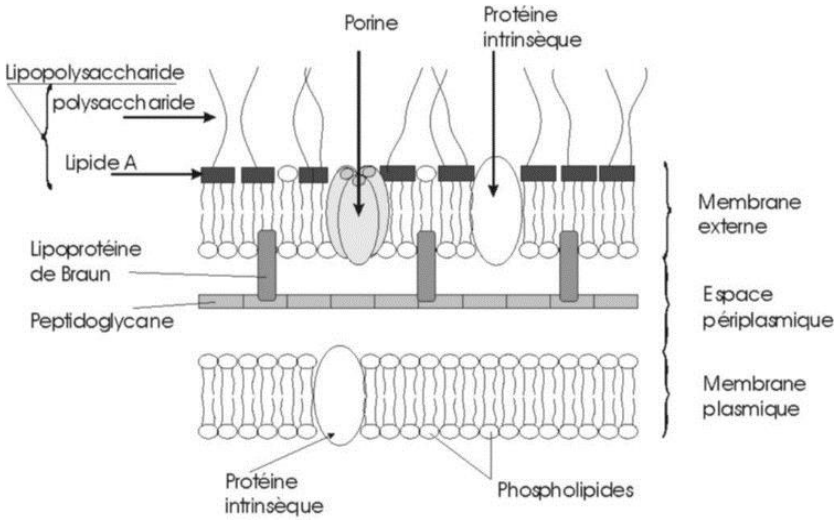


Figure 46| Organisation de la paroi d'une bactérie Gram négatif. Constituée d'une membrane externe et d'une membrane plasmique séparée par une couche de peptidoglycanes. De nombreux canaux sont insérés dans ces membranes pour le transport de molécules (R. Moreda).

Les thylacoïdes, présents chez tous les organismes pratiquant la photosynthèse oxygénique, renferment l'arsenal protéique nécessaire à la réalisation de la phase claire de la photosynthèse et sont présents chez la plupart des cyanobactéries. Notons toutefois l'exception de la cyanobactérie *Gloeobacter violaceus*, une cyanobactérie considérée primitive, dénuée de thylacoïdes et dont l'appareil photosynthétique est situé dans la membrane plasmique, (Rippka *et al.* 1974). Comme chez la plupart des cyanobactéries, les thylakoïdes sont chez les *Synechococcus* marins organisés en cercles concentriques parallèles à la membrane plasmique (Figure 47). Ils sont légèrement espacés de par la présence des PBS.

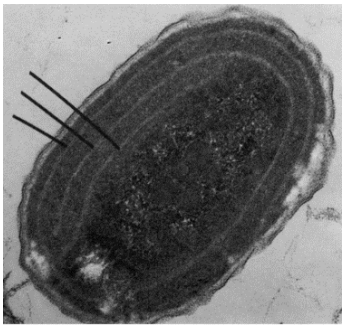


Figure 47| Photographie en microscopie électronique à transmission d'une cellule de *Synechococcus* sp. WH7803 cultivée à 30 µmol photons m^{-2} s^{-1}. Les lignes noires indiquent les thylacoïdes organisés de façon concentrique et parallèle à la membrane plasmique (Taille : 1µm, Kana and Glibert 1987).

Chez les *Synechococcus*, les thylacoïdes sont présents sous forme de 3 ou 4 lamelles (Sherman *et al.* 1994) mais leur nombre varie en fonction des souches et des conditions de culture (Kana and Glibert 1987). Elles représentent la majorité des membranes de la cellule ce qui fait de leur composition en lipides une estimation représentative de la composition globale en lipides de la cellule (Isamu Sakurai et al. 2006).

a. Les lipides membranaires des cyanobactéries d'eau douce

La diversité des lipides membranaires présents chez les cyanobactéries est relativement faible, et similaire aux lipides qui constituent les thylacoïdes des chloroplastes. On différencie quatre classes de glycérolipides (Wada and Murata 1998, Figure 48) : deux galactolipides comme lipides majoritaires : le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) et le digalactosyldiacylglycérol (DGDG), généralement présents à 70% (Merritt *et al.* 1991; Wada and Murata 1998), un sulfolipide : le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et un phospholipide : le phosphatidylglycérol (PG) qui représentent chacun entre 10 et 20% de la teneur en lipides totaux (Murata *et al.* 1992; Wada and Murata 1998). Un autre glycérolipide minoritaire est quelques fois détecté chez les cyanobactéries, le monoglucosyldiacylglycérol (GlcDG), connu pour être un précurseur du MGDG (Sato 2015).

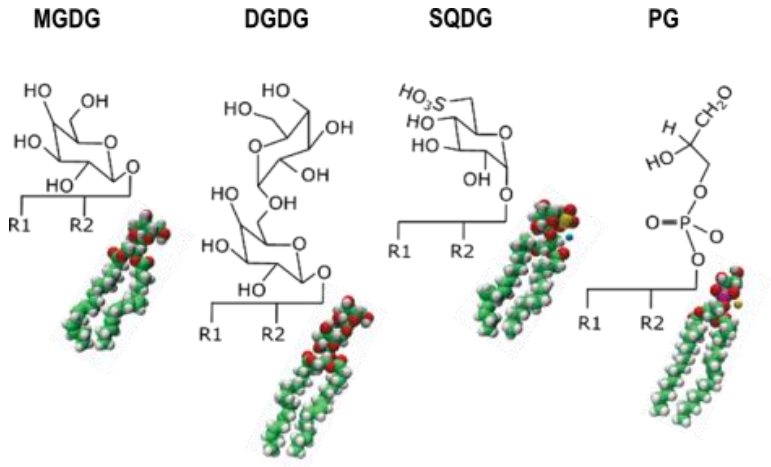


Figure 48| Structure moléculaire des quatre principaux lipides membranaires chez les cyanobactéries : Monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), Digalactosyldiacylglycérol (DGDG), Sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), Phosphatidylglycérol (PG) (Représentations 3D : Avanti Polar Lipids).

L'acide phosphatidique (PA) est le précurseur commun dans la synthèse de tous les lipides retrouvés chez les cyanobactéries (pour revue, voir Sato and Wada 2009). La molécule de base pour sa synthèse est donnée par le glycérol-3-phosphate (G3P). Il est tout d'abord acylé en position *sn*-1 par le G3P acyltransférase (GPAT) pour produire l'acide lysophosphatidique (LPA) puis à la position *sn*-2 par la LPA acyltransférase (LPAAT) pour produire le PA. Les voies de biosynthèse se divisent ensuite en deux catégories : d'un côté, le PA est déphosphorylé par la PA phosphatase afin de produire le diacylglycérol (DG) qui servira comme substrat dans la synthèse de MGlcDG et de SQDG. Sur l'autre voie, il sera converti en cytidine 5'-diphosphate-DG (CDP-DG) par la CDP-DG synthétase pour la synthèse de PG (Figure 49).

Le MGDG est synthétisé par épimérisation du glucose en galactose dont l'enzyme épimérase a été récemment caractérisée (Awai *et al.* 2006). La synthèse du DGDG se fait par ajout d'une molécule de galactose sur le MGDG mais l'identité de la molécule donneuse de galactose à l'enzyme DGDG synthétase n'est pas certaine, même s'il est présumé que ce soit l'UDP-1α-galactose, comme dans les chloroplastes. Le SQDG quant à lui est synthétisé *via* le transfert d'une molécule de sulfoquinovose depuis l'UDP-sulfoquinovose au DG par une réaction catalysée par la SQDG synthétase. Enfin, la synthèse du PG implique la seconde voie de synthèse des lipides. Ces réactions sont probablement les mêmes que chez *Escherichia coli* et impliqueraient alors trois réactions en cascade. Tout d'abord le transfert de la cytidine 5'-monophosphate à la PA qui donne du CDP-DG dans une réaction catalysée par la CDP-DG synthétase. Ensuite, la conversion de CDP-DG en phosphatidylglycérophosphate (PGP), qui est le résultat du transfert de G3P à la part de PA

donnée au CDP-PG, catalysée pat la PGP synthétase. Enfin, la déphosphorylation du PGP est réalisée par la PGP phosphatase.

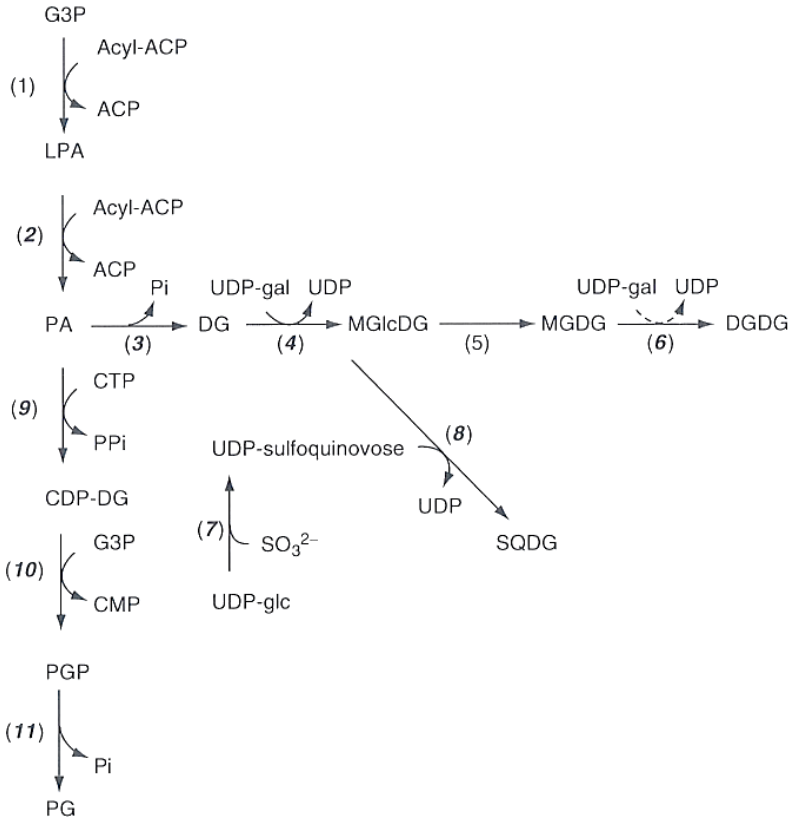


Figure 49| Voies de biosynthèse des lipides membranaires chez les cyanobactéries. Les enzymes correspondantes sont les suivantes : (1) G3P acyltransférase ; (2) LPA acyltransférase ; (3) PA phosphatase ; (4) MGlcDG synthétase ; (5) MGlcDG épimérase; (6) DGDG synthétase; (7) UDP-sulfoquinovose synthétase ; (8) SQDG synthétase ; (9) CDP-DG synthétase; (10) PGP synthétase ; (11) PGP phosphatase. Le donneur de galactose dans la réaction (6) est supposé être le UDP-gal. Les enzymes dont le gène a été identifié sont en indiqués en gras italique. Pi : Phosphate inorganique ; PPi : pyrophosphate ; UDP-gal : UDP-galactose et UDP-glc : UDP-glucose (d'après Sato and Wada, 2009)

Chez les cyanobactéries, les acides gras estérifiés sur le glycérol sont généralement composés de chaînes de 14 (acide myristique), 16 (acide palmitique) ou 18 carbones (acide stéarique ; Los and Mironov 2015) qui peuvent être saturés (sans double-liaisons carbone-carbone : C14:0, C16:0 ou C18:0), monoinsaturés (CX:1) ou polyinsaturés (CX:*n*), avec un nombre *n* maximal de quatre insaturations par chaîne (Murata and Wada 1995 ; Murata 1992). Ils sont synthétisés par des réactions séquentielles catalysées par l'acétyl-Coenzyme A (acétyl-CoA) carboxylase et les acides gras synthétases (fatty acid synthétases : FAS) (Figure 50, pour revue voir Sato and Wada 2009). L'acétyl-CoA est utilisée comme substrat par l'acétyl-CoA carboxylase et comme molécule de départ pour la synthèse des acides gras. L'acétyl-CoA carboxylase catalyse la première réaction de la synthèse des acides gras, c'est-à-dire la formation de malonyl-CoA à partir d'acétyl-CoA et de

CO_2. Toutes les réactions enzymatiques de la biosynthèse des acides gras, à l'exception de la conversion d'acétyl-CoA en malonyl-CoA sont catalysées par les FAS. Ces enzymes sont, chez les cyanobactéries et les plantes, des assemblages de sous-unités qui catalysent étape par étape la synthèse des acides gras, et sont appelées les FAS de type II (FAS II), à la différence des FAS de champignons et d'animaux, appelés FAS I, qui sont des enzymes « multitâches » qui possèdent tous les domaines nécessaires à la synthèse d'acides gras. Le malonyl-CoA généré par l'acétyl-CoA carboxylase est converti en malonyl-ACP par la malonyl-CoA :ACP transacyclase (MCAT), un composant des FAS. Le malonyl-ACP est ensuite converti en butyryl-ACP (C4) par des réactions séquentielles catalysées par d'autres composants des FAS appelés le 3-ketoacyl-ACP synthétase (KAS), le 3-ketoacyl-ACP réductase (KR), le 3-hydroxyacyl-ACP déhydrase (DH) et l'énoyl-ACP réductase (ENR). Le résultat de cette réaction, le butyryl-ACP est ensuite allongé avec une unité acétyle provenant du malonyl-ACP *via* la même chaîne de réactions, répétée le nombre de fois nécessaire pour obtenir une chaîne d'acides gras à la longueur souhaitée (14, 16 ou 18 carbones).

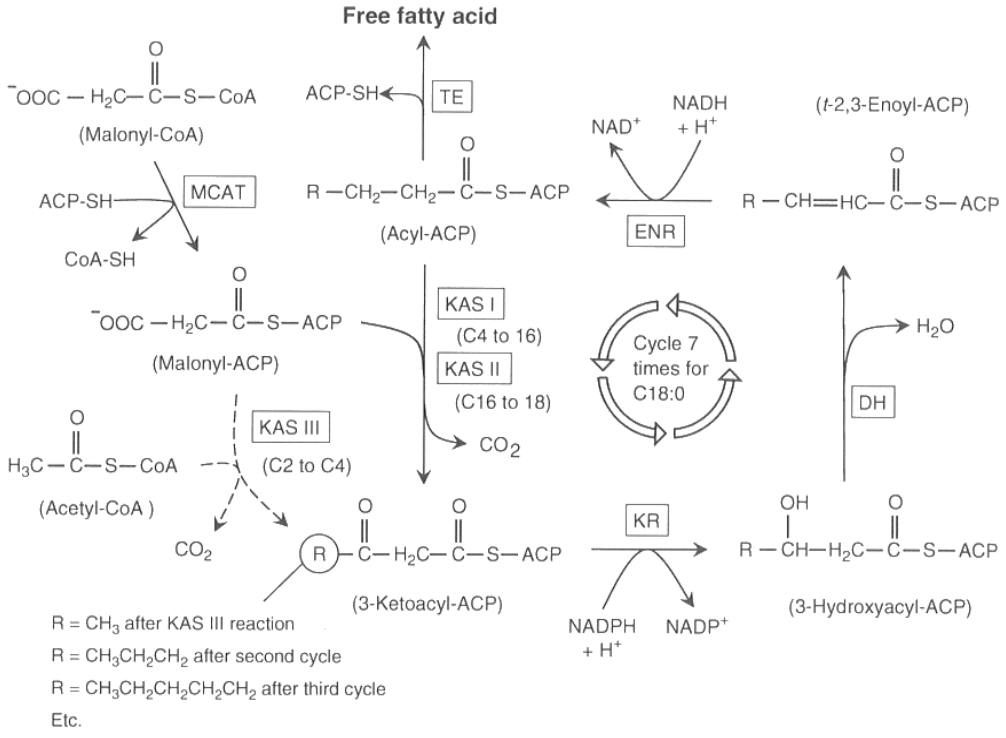


Figure 50| Voies de biosynthèse des acides gras. Les réactions cycliques ajoutent deux carbones durant la synthèse de l'acide gras. Les flèches pointillées indiquent les réactions catalysées par le 3-ketoacyl-ACP synthétase III, qui est spécifique de la synthèse du butyryl-ACP. Ensuite, les réactions cycliques à 4 étapes sont répétées jusqu'à obtenir l'acide gras à la longueur souhaitée. Une thioestérase permet le relargage éventuel de l'acide gras en dehors de l'ACP. Abréviations : MCAT : malonyl-CoA ACP transacylase ; KAS : 3 kétoacyl-ACP synthétase ; KR : 3-kétoacyl ACP réductase ; DH : 3-hydroxyacyl-ACP déhydrase ; ENR : enoyl-ACP réductase et TE : acyl-ACP thioestérase (tiré de Sato and Wada 2009).

Comme mentionné précédemment, les cyanobactéries peuvent présenter jusqu'à 4 double-liaisons carbone-carbone par chaîne d'acides gras. Ces double-liaisons sont insérées grâce à l'activité d'enzymes la plupart du temps membranaires, les lipide-désaturases. Ces réactions de déshydrogénation sont réalisées grâce à des sites catalytiques impliquant des *histidin-boxes* qui coordonnent un atome de fer non hémique, formant vraisemblablement une espèce ferrique à haute-valence pour la réaction de déshydrogénation. Les désaturations sont O_2-dépendantes et demandent un donneur d'électron, que l'on pense être la ferrédoxine chez les cyanobactéries et dans les chloroplastes. L'activité de chaque désaturase est régiospécifique : une désaturase donnée est capable de catalyser l'insertion d'une seule double liaison à une position spécifique sur un acide gras, nommée par son numéro de carbone selon la nomenclature Δ ; c'est-à-dire en comptant à partir du carbone carboxylique. Certaines désaturases sont spécifiques de la position de l'acide gras sur le lipide (*sn*-1 ou *sn*-2) et/ou de la tête polaire du lipide considéré.

Chez les organismes photosynthétiques, les lipide-désaturases sont codées par les gènes *des* (Chi *et al.* 2008). Les gènes de désaturase de cyanobactéries ont été extensivement étudiés chez le modèle d'eau douce *Synechocystis sp.* PCC 6803. Cette souche possède 4 gènes, *desA*, *desB, desC, et desD,* codant pour les désaturases correspondantes DesA, DesB, DesC et DesD, qui introduisent chacune une double liaison entre des atomes de carbone précis des chaines C18 et C16, fixées la plupart du temps respectivement en *sn*-1 et *sn*-2. Ainsi, DesA désature le carbone localisé en position Δ12, DesB en Δ15, DesC en Δ9 et DesD en Δ6 (Figure 51). Certaines désaturases se déclinent en plusieurs variantes qui ont des régiospécificités légèrement différentes. Par exemple, les gènes *des*C1 et *des*C2 codent tous deux pour des Δ9-désaturases, mais elles ont des affinités préférentielles pour les chaines acyl fixées sur le MGDG en *sn*-1 et *sn*-2, respectivement (Chintalapati *et al.* 2006; Chi *et al.* 2008) . Chez *Synechocystis* sp. PCC 6803 et d'autres modèles d'eau douce, les acides gras des lipides MGDG, SQDG et PG sont désaturés dans un ordre séquenciel assez précis, s'initiant en Δ9 puis Δ12 et Δ15 (Sato and Murata 1982), alors qu'il n'a pas été montré d'activité de désaturation sur le DGDG (Sato and Wada 2009).

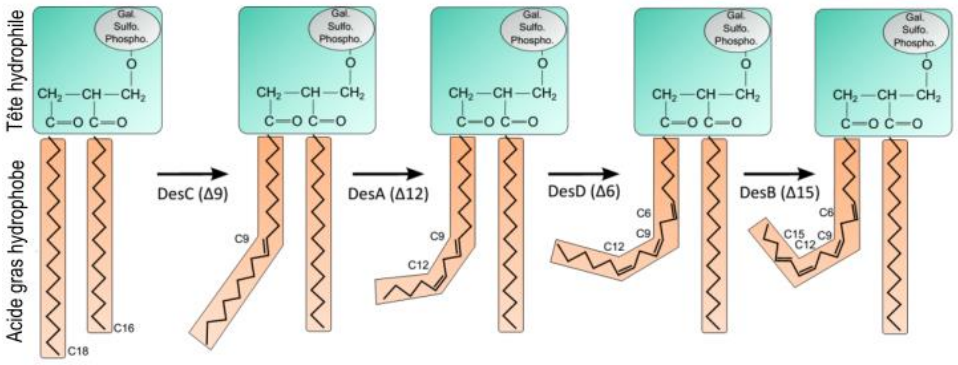


Figure 51| Degrés d'insaturation des chaînes d'acides gras chez *Synechocystis* sp. PCC 6803. Insertion de doubles liaisons le long de la chaine acyl en position *sn*-1 par différentes enzymes. Les désaturases DesC, DesA, DesD et DesB introduisent des doubles liaisons sur les carbones des positions Δ9, Δ12, Δ6, Δ15 dans un ordre séquentiel (modifié de Pittera 2015).

Plusieurs équipes de recherche tentent d'établir une classification des cyanobactéries d'eau douce selon leur composition en acides gras en lien avec leurs capacités de désaturation (Murata *et al.* 1992; Murata and Wada 1995; Wada and Murata 1998 ; Figure 52):

- Les cyanobactéries du Groupe 1 ont la possibilité de désaturer leurs acides gras en position Δ9 du C18:0 du *sn*-1 du MGDG, SQDG et PG et C16:0 des *sn*-1 et *sn*-2 du MGDG ;
- Les cyanobactéries du Groupe 2 ont la possibilité de désaturer leurs acides gras en position Δ9, Δ12 et Δ15 (ou ω3) des C18 du *sn*-1 du MGDG, SQDG et PG et ont la possibilité de désaturer leurs acides gras en position Δ9 et Δ12 des C16 du *sn*-2 du MGDG ;
- Les cyanobactéries du Groupe 3 ont la possibilité de désaturer leurs acides gras en position Δ9, Δ12, et Δ6 du C18:0 du *sn*-1 du MGDG et en position Δ9 et Δ12 des C18 du *sn*-1 du SQDG et du PG ;
- Les cyanobactéries du Groupe 4 ont la possibilité de désaturer leurs acides gras en position Δ9, Δ12, Δ6 et Δ15 des C18 du *sn*-1 du MGDG et en position Δ9, Δ12 et Δ15 des C18 du *sn*-1 du SQDG et du PG.

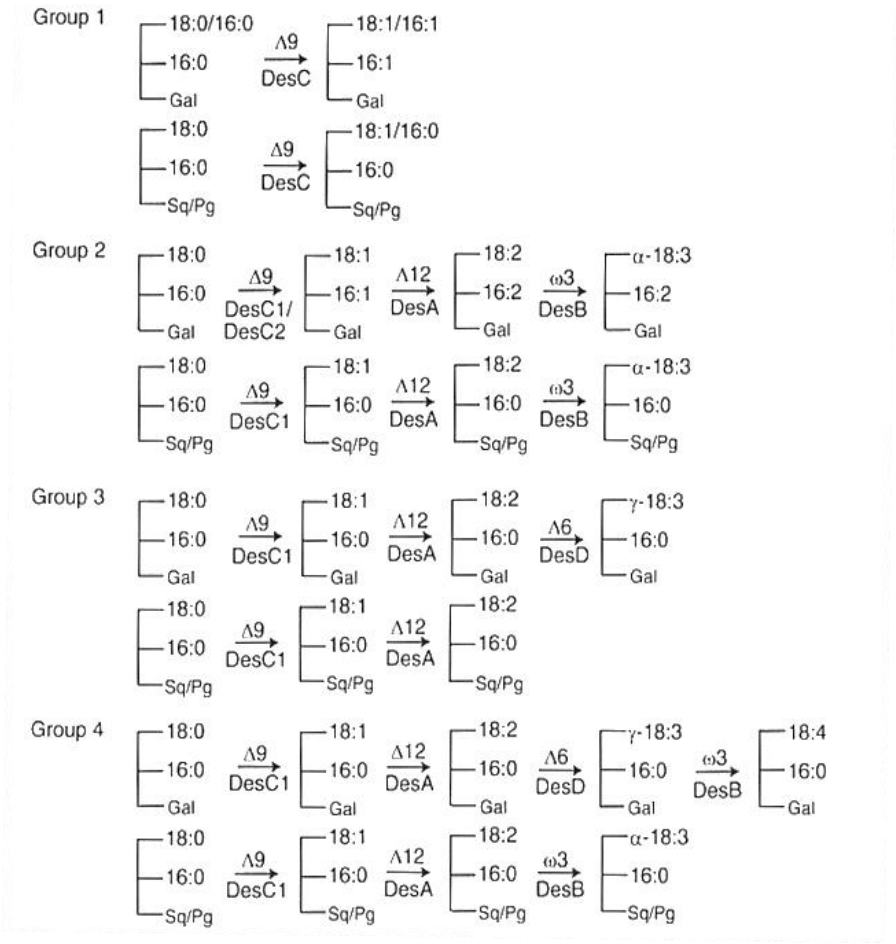


Figure 52| Classification des modes de désaturation des acides gras chez les cyanobactéries. Principales voies de désaturation des acides gras chez les différents groupes de cyanobactéries d'eau douce. Les voies de désaturation sont indiquées de façon séparée pour les galactolipides (Gal, MGDG et DGDG) et pour le SQDG et le PG (Sq/Pg). Les désaturations d'acides gras en position Δ9, Δ12, Δ15 et Δ6 sont catalysées par les désaturases DesC, DesA, DesB et DesD, respectivement. DesC peut être sous divisée en DesC1 et DesC2 (Chintalapati *et al.* 2006). Les désaturations en Δ9 et Δ12 des positions *sn*-1 et sn-2 du MGDG des Groupes 1 et 2 sont indépendantes mais sont représentées ici groupées pour faciliter la lecture. A noter que les désaturations des 18:0 et 16:0 en Δ9 sont catalysées par DesC1 et DesC2 respectivement, chez les souches du Groupe 2. Gal : galactose, Pg : phosphoglycérol, Sq : sulfoquivovose (d'après Sato and Wada 2009).

Une mise à jour de cette classification qui date des années 90, a été publiée en 2015 (Tableau 2 ; Los and Mironov 2015), en essayant d'y associer des données génomiques concernant le contenu en gènes de lipide-désaturases dans les souches dont le génome est a été séquencé. Le but de ces efforts de classification serait d'essayer de relier la taxonomie des cyanobactéries à leur composition en acides gras. Toutefois, ces études ne concernent que certaines souches modèles d'eau douce. Notons que les nombreuses souches et génomes de picocyanobactéries marines disponibles ont été considérés comme un seul groupe homogène.

Tableau 2| Classification des cyanobactéries selon leur composition en acide gras majoritaires, d'après Los (2015). Les différents groupes sont principalement définis en fonction des capacités (potentielles) de désaturation de souches modèles d'eau douce. A noter que les souches de picocyanobactéries marines sont sous-représentées, considérées comme un groupe homogène, et que les données présentées sont fausses car les acides gras majoritaires sont les C14 et les C16 dans ces organismes, les C18 étant rares (F : Filamentous, U : Unicellular cyanobacteria).

Organism		Fatty Acids										
		14:0	14:1	16:0	16:1	16:2	18:0	18:1	18:2	α18:3	γ18:3	18:4
			Δ^9		Δ^9	$\Delta^{9,12}$		Δ^9	$\Delta^{9,12}$	$\Delta^{9,12,15}$	$\Delta^{6,9,12}$	$\Delta^{6,9,12,15}$
Group 1												
Mastigocladus laminosus	F	+	−	+	+	−	+	+	−	−	−	−
Synechococcus PCC 7942	U	+	−	+	+	−	+	+	−	−	−	−
Synechococcus PCC 6301	U	+	−	+	+	−	+	+	−	−	−	−
Synechococcus lividus	U	−	−	+	+	−	+	+	−	−	−	−
Group 2												
Plectonema boryanum	F	+	−	+	+	−	+	+	+	+	−	−
Nostoc muscorum	F	+	−	+	+	−	+	+	+	+	−	−
Anabaena variabilis	F	−	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−
Synechococcus PCC 7002	U	+	−	+	+	−	+	+	+	+	−	−
Group 3												
Arthrospira platensis	F	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−
Synechocystis PCC 6714	U	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−
Group 4												
Tolypothrix tenius	F	−	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Synechocystis PCC 6803	U	−	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+

b. Les lipides membranaires des picocyanobactéries marines

La composition en lipides membranaires des cyanobactéries strictement marines a été beaucoup moins étudiée que celles de leurs cousines d'eau douce. Les premiers travaux ont suggéré que, chez les souches *Synechococcus* spp. WH7803, WH8113 et WH8103, les lipides MGDG et DGDG sont majoritaires, suivis par le SQDG et enfin le PG (Merritt *et al.* 1991). Les travaux de Van Mooy et collaborateurs (2006, 2009) suggèrent cependant que les picocyanobactéries marines sont capables d'induire des variations des proportions des 4 lipides membranaires en fonction de la concentration en sels nutritifs. Les auteurs proposent que la teneur atypique en SQDG (jusqu'à 66%) qu'ils décrivent chez ces picocyanobactéries résulterait de mécanismes adaptatifs qui permettraient de remplacer le phosphore limitant dans leur environnement, par le soufre. La substitution de phospholipides par des lipides non phosphatés tels que le SQDG diminuerait ainsi les besoins en phosphore (Van Mooy *et al.* 2006 ; 2009). Des études plus récentes contredisent certains de ces résultats en montrant que chez les souches *Prochlorococcus* spp. MED4 et MIT9313, les membranes sont classiquement composées en majeure partie de MGDG (environ 50%), le SQDG ne représentant que 10% des lipides membranaires, et le PG moins de 10% (Biller *et al.* 2014). Ces

derniers travaux suggèrent une composition en acides gras riches en acide myristique (C14) chez ces organismes.

A la suite de l'étude génomique générale des lipide-désaturases de 37 cyanobactéries de Chi et collaorateurs (2008), une inspection plus spécifique des gènes *des* dans une cinquantaine de génomes de *Synechococcus* marins appartenant à la plupart des clades du sous-cluster 5.1 a récemment permis de dévoiler des différences fines d'équipement en désaturases chez ces cyanobactéries. Les *Synechococcus* marins (et les *Prochlorococcus*) présentent une composition en lipide-désaturases plus réduite que la plupart des cyanobactéries d'eau douce (Tableau 3, Pittera *et al.* 2018). Ainsi, il existe quatre gènes principaux de désaturase et une souche a généralement 3 de ces gènes, qui sont soit des gènes codant pour des désaturases en Δ9, soit en Δ12. Une étude phylogénétique couplée à une étude de motifs de sites catalytiques a ainsi montré la présence chez les *Synechococcus* marins de deux désaturases Δ9, DesC3 et DesC4 proches des désaturases de cyanobactéries d'eau douce, et de deux désaturases Δ12, DesA2 et DesA3, qui s'inscrivent dans la radiation des désaturases Δ12 d'eau douce de façon plus distante (Figure 53).

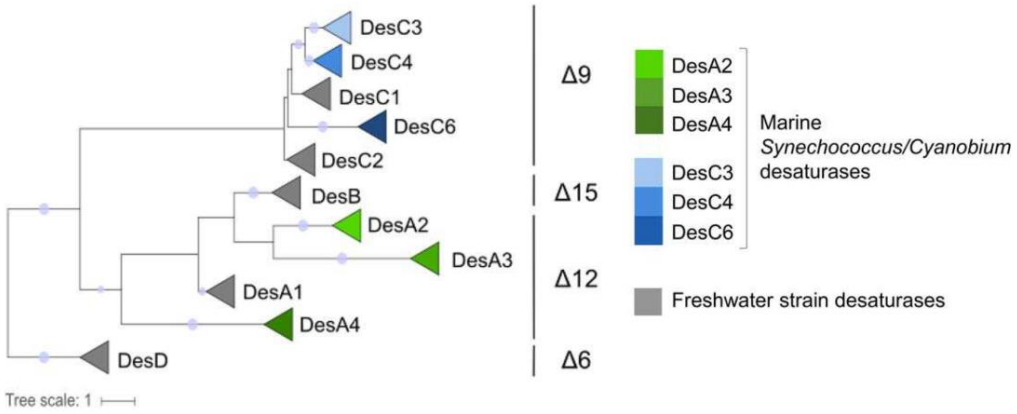


Figure 53| Arbre phylogénétique (Maximum Likelihood) des séquences protéiques de lipide-désaturases cyanobactériennes. Les groupes contenant les enzymes de *Synechococcus* marins sont indiqués en bleu (Δ9) et en vert (Δ12) alors que les groupes strictement d'eau douce sont indiqués en gris. Les cercles aux nœuds indiquent une valeur de bootstrap supérieure à 70% et l'échelle représente le nombre de substitution par position d'aminoacide.

Tous les *Synechococcus* marins possèdent le gène *desC3*, qui fait par conséquent partie du *core genome*, codant pour une enzyme désaturant en position Δ9. L'analyse comparée des génomes a par ailleurs révélé que les trois autres gènes de désaturases montrent des profils phylétiques spécifiques pour les clades dominant les communautés naturelles. Ainsi, le second gène de désaturase codant pour une autre Δ9 lipide-désaturase, *desC4*, est présent principalement dans les génomes des souches adaptées aux environnements froids des clades I, IV et CRD1. Les

deux autres gènes codant pour les Δ12-désaturases. Le gène *desA2* est présent dans les génomes des souches tropicales des clades II et III, alors que *desA3* est présent dans les génomes des souches du clade I, III, IV et CRD1. Les souches du clade II typiquement adaptées à des environnements chauds n'ont ainsi que deux gènes de lipide-désaturases dans leur génome (Tableau 3).

Tableau 3| Profils phylétiques des gènes de lipide-désaturases dans 53 génomes de *Synechococcus* marins et *Cyanobium*, appartenant aux 3 sub-clusters 5.1 (313 clades différents), 5.2 et 5.3 (Pittera *et al.* 2018).

			Δ9 desaturases			Δ12 desaturases			Other desaturases					Number
Subcluster[a]	Clade[b]	Representative sequenced strains	*desC3*	*desC4*	*desC6*	*desA2*	*desA3*	*desA4*	*desC*	*desC*	*des*	*des*	*des*	of *des* genes
5.1	**I**	CC9311, MVIR-18-1, PROS-9-1, WH8016, ROS8604												3
		SYN20												4
	II	A15–62, CC9605, M16.1, RS9902, RS9907, TAK9802												2
		KORDI-52												1
		A15–44												3
		WH8109, PROS-U-1												3
	III	WH8102, WH8103, A15–24, A18–46.1, BOUM118, RS9915, A15–28, A18–40												3
	IV	BL107, CC9902												3
	V	WH7803, BMK-MC-1												4
	VI	WH7805, MEDNS5												4
		PROS-7-1												6
	VII	A15–60, A18–25c												3
		NOUM97013												4
	VIII	RS9909, RS9917												3
		WH8101												2
	IX	RS9916												2
	CRD1	MITS9220, BIOS-E4-1												3
		BIOS-U3-1												4
	WPC1	A15–127, KORDI-49												3
	XX	CC9616												2
	UC-A	KORDI-100												1
5.2		NS01, WH5701												6
		PCC6307												7
		CB0101												6
		CB0205												5
		PCC7001												4
5.3		RCC307, MINOS11												3

III. 1. 2. Thermorégulation des membranes cyanobactériennes

La température joue un rôle prépondérant sur les propriétés physiques de membranes biologiques, en particulier sur leurs fluidité/viscosité (Figure 54). Plus la température est basse, plus les membranes tendent à se rigidifier alors qu'à des températures hautes les membranes se fluidifient, voire s'hyperfluidifient dans les cas extrêmes. Ces changements de viscosité ont une grande influence sur l'activité des complexes multiprotéiques membranaires, dont la conformation et les mouvements moléculaires dépendent en grande partie de l'état physique des membranes. C'est pourquoi il est primordial pour une cellule de réguler la fluidité membranaire afin d'assurer le fonctionnement optimal de toutes les protéines membranaires.

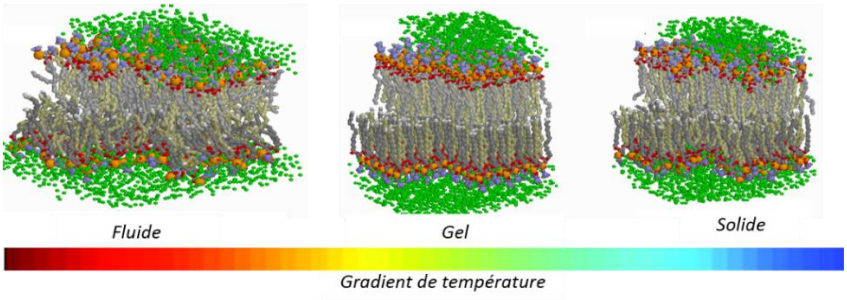


Figure 54| Représentation de l'influence de la température sur la fluidité de la membrane lipidique (Image RasMol par E Martz, d'après Heller *et al.* 1993)

Les études sur la réponse du métabolisme lipidique cyanobactérien à la température ont principalement été réalisées sur des cyanobactéries modèles d'eau douce. Les processus de régulation de la fluidité membranaire sont basés sur plusieurs mécanismes moléculaires plus ou moins bien étudiés.

a. La régulation de l'abondance de molécules fluidifiantes dans les membranes.

Chez les eucaryotes, de nombreux composés du groupe des stérols peuvent être insérés dans les membranes pour en modifier leur viscosité, le plus connu étant le cholestérol chez les animaux et les phytostérols chez les végétaux. Les procaryotes ne possèdent pas les voies de biosynthèse du noyau stérane et ne peuvent donc pas synthétiser de stérols. En revanche, de nombreux procaryotes sont capables de synthétiser le noyau hopane, duquel dérivent le groupe des hopanoïdes (Figure 55). Ces molécules sont utilisées par les procaryotes, comme les stérols eucaryotes, pour réguler la fluidité de la membrane. Cependant, aucun composé hopanoïde n'a encore été mis en évidence chez les cyanobactéries.

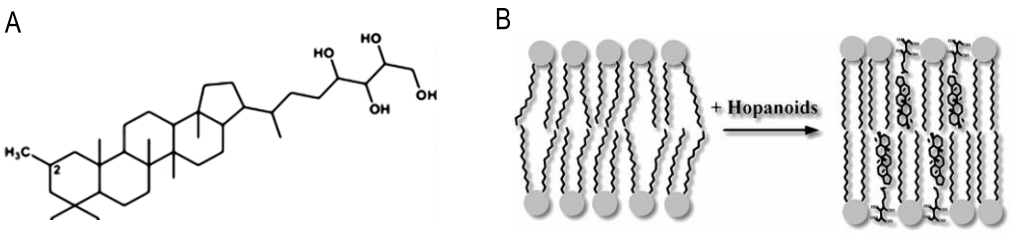


Figure 55| (A) Illustration d'un hopanoïde (2-méthylhopanoïde) et (B) de son insertion dans les membranes sur la fluidité des membranes. (tiré de http://schaechter.asmblog.org).

Les hydrocarbures, de type alcanes ou alcènes par exemple, sont un autre groupe de molécules pouvant éventuellement être insérées dans les membranes dans les membranes pour en réguler la viscosité. Ces molécules, souvent saturées en hydrogène, font surtout l'objet d'intensives recherches appliquées dans le cadre de la production de biofuels, et l'on connait encore mal leurs

fonctions biologiques. Il a toutefois été montré qu'un très grand nombre de cyanobactéries (*Fisherella*, *Oscillatoria*, *Pleurocapsa*, *Microcystis, Synechocystis, Prochlorococcus, Synechococcus, etc…)* sont capables de synthétiser des hydrocarbures à des taux assez faibles pour l'industrie mais tout à fait significatifs pour avoir une fonction biologique et un rôle écologique (Tableau 4, Coates *et al.* 2014; Lea-Smith *et al.* 2015). Les travaux de Lea-Smith et collaborateurs (2015) estiment qu'au regard de leur abondance, la masse d'hydrocarbures associées aux picocyanobactéries marines *Prochlorococcus* et *Synechococcus* dans l'océan mondial est colossale et serait de l'ordre de 2 millions de tonnes.

Tableau 4| Production d'hydrocarbures par plusieurs souches de picocyanobactéries marines des genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*. Les teneurs cellulaires en hydrocarbures ont été quantifiés by GC-MS et cytométrie en flux, en tripliquats. Les populations globales dans l'océan mondial de *Prochlorococcus* et *Synechococcus* ont été estimées à 2,9 ± 0,1 × 10^{27} et 7,0 ± 0,3 × 10^{26} cellules, respectivement ; *n.d., not detected* (d'après Lea-Smith *et al*. 2015).

Strain	Pentadecane, fg per cell	Heptadecane, fg per cell	8-heptadecene, fg per cell	Total hydrocarbons, fg per cell	Total hydrocarbons, % dry cell weight	Hydrocarbons in global cellular population, million tons	Hydrocarbon production, million tons per year
Prochlorococcus str. CCMP1986	0.448 ± 0.223	0.018 ± 0.009	n.d.	0.466 ± 0.232	0.368 ± 0.126		
Prochlorococcus str. MIT9312	0.337 ± 0.343	0.013 ± 0.012	n.d.	0.350 ± 0.355	0.181 ± 0.187		
Prochlorococcus str. MIT9313	0.685 ± 0.548	0.026 ± 0.014	n.d.	0.711 ± 0.562	0.149 ± 0.080		
Mean *Prochlorococcus*				0.509 ± 0.383		1.48	269–539
Synechococcus sp. WH5701	0.096 ± 0.018	1.170 ± 0.211	1.314 ± 0.225	2.580 ± 0.454	0.138 ± 0.009		
Synechococcus sp. WH7803	0.396 ± 0.136	n.d.	0.035 ± 0.001	0.431 ± 0.137	0.033 ± 0.008		
Synechococcus sp. WH7805	0.248 ± 0.065	n.d.	0.065 ± 0.009	0.313 ± 0.074	0.024 ± 0.005		
Synechococcus sp. WH8102	0.261 ± 0.047	n.d.	0.043 ± 0.005	0.304 ± 0.052	0.022 ± 0.002		
Mean *Synechococcus*				0.907 ± 0.179		0.635	39–232

Les cyanobactéries capables de synthèse d'hydrocarbures portent généralement dans leur génome les gènes codant pour la biosynthèse de ces hydrocarbures par l'une ou l'autre des deux voies connues (OLS « Olefin synthétase » ou FAAR/ADO), qui dérive des voies de synthèse des acides gras (Klähn et al. 2014). Certaines études récentes suggèrent clairement un rôle dans l'acclimatation à la température et à d'autres facteurs environnementaux (Berla *et al.* 2015; Yamamori *et al.* 2018).

Les caroténoïdes, et plus particulièrement la zéaxanthine, pourraient également avoir un impact sur les propriétés structurelles et dynamiques des membranes. En effet, la molécule de zéaxanthine, quand elle est libre dans une membrane, traverse la bicouche lipidique et ses groupes polaires s'ancrent dans les zones polaires opposées de la membrane. En raison des interactions de

Van Der Waals, les molécules pigmentaires rigidifient les membranes et limitent la pénétration des composés essentiels à la cellule (Gruszecki and Strzałka 2005).

b. La régulation de l'abondance des 4 classes de lipides.

La composition en têtes polaires peut être liée à des variations de l'encombrement stérique associé à cette partie de la molécule, avec des conséquences possibles sur la mobilité/diffusion des lipides dans les membranes. Les charges éventuellement associées à certaines têtes polaires peuvent aussi influencer la fluidité membranaire. La régulation des proportions des lipides membranaires est probablement régulée au niveau des différentes lipides-synthétases mais il existe peu de données récentes sur les variations des proportions de lipides complexes dans les membranes cyanobactériennes, notamment parce que les dosages en spectrométrie de masse sont techniquement délicats. Les quelques études disponibles sur les cyanobactéries d'eau douce reportent généralement une composition en lipides membranaires plutôt stable en réponse à la température, comme chez la picocyanobactérie marine *Synechococcus* sp. WH7803 (Murata *et al.* 1992; Wada and Murata 1998; Pittera *et al.* 2018).

c. La régulation de l'épaisseur de la membrane.

La longueur des chaines aliphatiques d'acides gras est directement liée à leur température de solidification. Raccourcir la longueur des chaînes d'acides gras d'une membrane, c'est-à-dire l'affiner, permet ainsi de diminuer la température à laquelle la membrane se rigidifie et peut permettre d'en augmenter sa fluidité. La régulation de l'incorporation de chaines de différentes longueurs dans les lipides membranaires se fait au niveau de la FAS mais les mécanismes qui gouvernent cette régulation sont complexes et encore mal compris. En effet, la détermination de la longueur des chaines acyl repose probablement sur un système de régulation enzymatique, basé sur la compétition entre les enzymes *elongation synthétases*, la quantité de malonyl-ACP disponible et l'utilisation de l'acyl-ACP par l'enzyme acyltransférase. De plus, il a été montré que les enzymes du groupe des β-ketoacyl synthétases, qui allongent la chaine acyl à chaque cycle, sont probablement impliquées dans la régulation de la longueur des acides gras insérés sur les lipides complexes et à la réponse à la température (Garwin *et al.* 1980 ; Heath *et al.* 1994 ; Heath and Rock 1995 ; Heath *et al.* 2002).

La cyanobactérie marine *Synechococcus* sp. WH7803, à la différence des cyanobactéries d'eau douce, utilisent des lipides portant majoritairement du C16 en *sn*-1 et du C14 en *sn*-2, impliquant qu'elle possède probablement des membranes constitutivement plus fines que ses cousines dulcicoles (Pittera *et al.* 2018). Les mesures sur cellules acclimatées à différentes températures, ou durant des expériences de stress thermiques, montrent une augmentation du rapport C14:C16,

principalement à la position *sn*-1 des galactolipides (majoritaires) en réponse aux basses températures. Ce mécanisme de contrôle de la fluidité a été assez peu étudié.

d. La régulation du degré d'insaturations des chaines d'acides gras.

Le niveau d'insaturation d'un acide gras est aussi directement lié à son point de solidification. Ainsi, l'insertion de doubles liaisons permet de réguler directement la fluidité d'une membrane, souvent sans nécessité de synthèse de lipide *de novo*. Plus il y a d'insaturations, plus la membrane est fluide. Ce mécanisme bien connu a été très étudié et est régulé par l'action de divers membres de la famille des enzymes lipide-désaturases, qui peuvent différer selon les organismes considérés. Les nombreuses études menées sur la souche modèle *Synechocystis* sp. PCC 6803 ont clairement démontré que les lipide-désaturases, en faisant varier le nombre jusqu'à 4 insaturations sur certains acides gras, sont des enzymes clefs de la réponse aux variations de température (Wada and Murata 1990 ; Murata and Wada 1995 ; Quoc and Dubacq 1997 ; Chintalapati *et al.* 2006). Des résultats très similaires ont été obtenus chez un certain nombre d'autres souches d'eau douce ainsi que chez plusieurs unicellulaires eucaryotes (Kates *et al.* 1984 ; Lukeš *et al.* 2014 ; Ernst *et al.* 2016).

Les capacités de désaturation des picocyanobactéries marines en réponse à la température ont, quant à elles, été peu étudiées. La composition en espèces d'acides gras de la souche *Synechococcus* sp. WH7803 a été étudiée pour chacun des quatre lipides complexes et à chaque position du glycérol à 6 températures d'acclimatation et durant des changements brusques de température (Pittera *et al.* 2018). En réponse aux basses températures, on constate l'insertion d'insaturations à des positions spécifiques dans ses chaînes d'acides gras (Figure 56), sur les 3 lipides majoritaires, MGDG, DGDG, et SQDG. Les proportions C14:1, C16:1 et C16:2 augmentent quand les températures d'acclimatation sont plus froides ou lorsqu'on transfère des cellules de 20°C à 13°C.

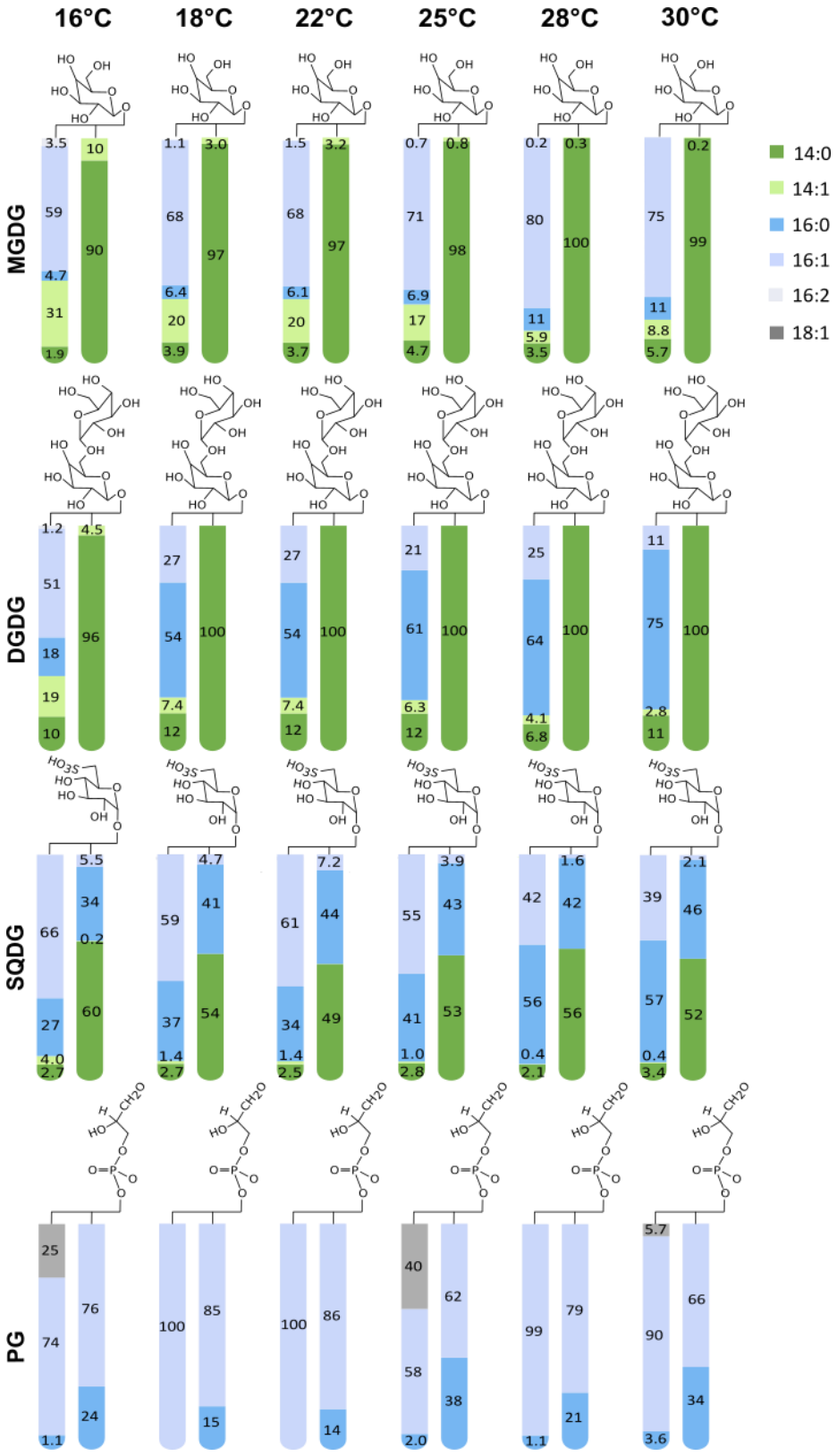


Figure 56|Variations relative (%) des acides gras estérifiés sur les positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol des quatre lipides membranaires de la souche *Synechococcus* sp. WH7803 acclimatée à une gamme de température de croissance. Les barres de gauche représentent les espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-1 du glycérol, les barres de droites aux espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-2 du glycérol. Monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalactosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), phosphatidylglycérol (PG ; Pittera *et al.* 2018).

Partie IV.
Problématiques et objectifs de la thèse

Depuis les premières études de biogéographie de Zwirglmaier et collaborateurs (2007, 2008), plusieurs travaux utilisant des méthodes moléculaires de plus en plus sophistiquées sont venus appuyer et préciser les premières descriptions de la distribution mondiale des lignées de *Synechococcus* marins (par exemple Sohm *et al.* 2016 ; Farrant *et al.* 2016). Ces travaux montrent clairement que certains clades, en particulier les plus abondants (I, II, III, IV et CRD1), habitent dans des niches environnementales différentes, que les océanologues cherchent maintenant à définir plus précisément. Un des paramètres les plus importants est la température de l'eau de mer.

La présence de cellules de *Synechococcus* a été reportée dans des masses d'eau allant d'environ 2°C à 30°C, l'abondance diminuant fortement en dessous de 14°C. Néanmoins, différentes lignées de ces organismes habitent différentes niches thermiques. Ainsi, les cellules des clades I et IV sont détectées dans les eaux les plus froides de l'aire de distribution de *Synechococcus*, entre environ 7 et 20°C (Figure 57).

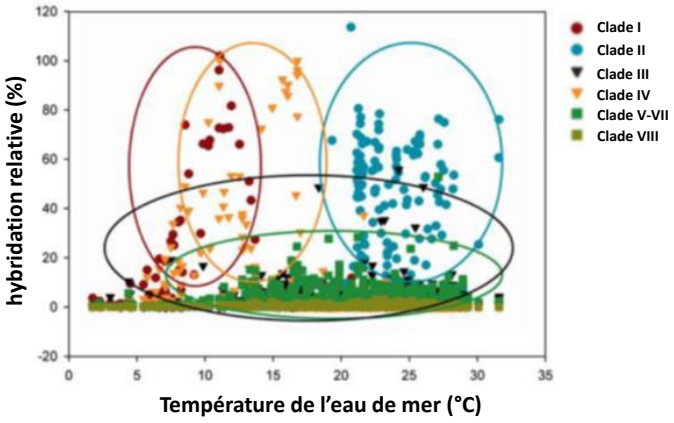


Figure 57| Abondance relative des clades de *Synechococcus* en fonction de la température de l'eau de mer. Ce graphe met en évidence une séparation claire entre les clades I-IV (rouge et orange) et II-III (bleu clair et bleu foncé ; Zwirglmaier *et al.* 2008).

Le clade II est abondant dans les eaux chaudes tropicales et intertropicales, où la température oscille entre 22 et 32°C, aussi bien dans les environnements côtiers qu'au large. Le clade III ne montre pas de préférences latitudinales/thermales aussi claires, mais domine généralement les

communautés des zones oligotrophes, notamment en Mer Méditerranée, qui sont souvent des environnements assez chauds ou présentant des périodes estivales chaudes.

Les premières études de thermophysiologie sur les *Synechococcus* marins ont montré que les clades I et II ont des *optima* et des limites thermiques de croissance tout à fait en accord avec leur niche thermique (Pittera *et al.* 2014 ; Varkey *et al.* 2016) et quelques premières études ont commencé à mettre en évidence des spécificités physiologiques de ces lignées. Celles-ci suggèrent que ces différents écotypes de température de *Synechococcus* marins sont physiologiquement spécialisés dans leur niche thermique (Pittera *et al.* 2017 ; Pittera *et al.* 2018 ; Varkey *et al.* 2016). Néanmoins, les caractères adaptatifs, en particulier physiologiques, qui sous-tendent cette spécialisation restent à l'heure actuelle largement méconnus. L'objectif global de ce travail de thèse est de contribuer à **la compréhension des processus adaptatifs qui ont façonné les différents thermotypes de *Synechococcus* marins**. Dans cette thèse, nous avons travaillé sur l'hypothèse que, durant l'évolution et la colonisation de différentes niches thermiques, **la microdiversification en différents thermotypes de *Synechococcus* a impliqué une adaptation du métabolisme lipidique membranaire**, un compartiment cellulaire connu comme extrêmement sensible à la température.

Peu de données sont actuellement disponibles sur la composition lipidique et la régulation des membranes chez les *Synechococcus* marins. Les travaux récents de Pittera *et al.* (2018) ont montré que *Synechococcus* sp. WH7803 présente une composition et des mécanismes de thermorégulation du lipidome membranaire particuliers, bousculant les dogmes établis depuis les années 90 chez les cyanobactéries d'eau douce. De plus, la découverte chez différents écotypes de sets distincts de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique membranaire suggère la possibilité d'adaptations spécifiques des membranes. Ces premières découvertes ouvrent les portes de la l'étude des stratégies de thermorégulation des membranes chez les picocyanobactéries marines, et les écotypes de température de *Synechococcus* en particulier.

Mon travail de thèse se situe ainsi dans la continuité de ces travaux et s'organise autour de plusieurs objectifs :

- Définir les *preferenda* thermiques de souches représentatives de plusieurs clades écologiquement importants du sous-cluster 5.1.
- Etudier la réponse de l'appareil photosynthétique de ces souches à des variations de température.
- Décrire et comparer la composition en lipides membranaires de 4 souches, représentatives des clades I à IV.
- Mettre en évidence et comparer les mécanismes de thermorégulation, à long et court termes, de la composition en lipides des membranes de 4 souches représentatives des clades I à IV.

Chapitre 1

Matériels et méthodes



Station Biologique de Roscoff, Salle des aquariums.

Sélection et conditions de culture des souches de *Synechococcus*

Comparaison de la thermophysiologie de quatre souches des clades I, II, III, et IV

Cette étude s'est réalisée dans le cadre du projet ANR SAMOSA (*Synechococcus As a MOdel genus for Studying Adaptation of marine phytoplankton to environmental changes*, BIOADAPT 2014-2018). Ce projet de recherche consiste en une approche de biologie des systèmes avec pour objectifs d'étudier des mécanismes d'acclimatation et d'adaptation peu connus chez les *Synechococcus* marins, à la fois au laboratoire et dans l'environnement, en utilisant des méthodes de physiologie, (méta)transcriptomique et (méta)génomique. Un des buts du projet est aussi d'utiliser les données générées pour tenter de modéliser ces mécanismes impliqués dans les réponses à différentes fluctuations environnementales physiques (lumière, UV, température) afin de mieux prédire les capacités d'adaptation, de dynamique et de distribution de ces organismes dans un contexte de changement global. Mon travail de thèse concerne une partie de ce projet : la comparaison de la thermophysiologie de 4 souches des clades I, II, III et IV, avec une emphase sur la régulation de la composition des membranes.

Pour cela, 4 souches représentatives des 4 clades dominants (*i.e.* I, II, III et IV) ont été sélectionnées pour leurs différences de niches écologiques (Figure 58), de type pigmentaire et pour la disponibilité de leur séquence génomique dans les bases de données. Ces souches sont entretenues à la collection de cultures de Roscoff (http://roscoff-culture-collection.org/) : *Synechococcus* spp. MVIR-18-1 (Clade I, non-axénique), A15-62 (Clade II, non-axénique), WH8102 (Clade III, axénique) and BL107 (Clade IV, non-axénique). Certaines informations concernant ces souches sont répertoriées dans le Tableau 5.

Les souches ont été cultivées dans du milieu de culture PCR-S11 (

Annexe 2 ; Rippka *et al.* 2000) stérile supplémenté avec 1 mM de nitrate de sodium, sous une lumière continue fournie par des rampes de LEDs multicolores (Alpheus, France) délivrant une lumière blanche (Spectre en Annexe 3A) continue à 20 µmol photons m^{-2} s^{-1}. L'axénie des cultures de la souche *Synechococcus* sp. WH8102 a été contrôlée régulièrement par cytométrie en flux en présence d'un intercalant fluorescent de l'ADN, le SYBR-Green (voir «Cytométrie en flux »).



Figure 58| Localisation des sites d'isolement des souches de *Synechococcus* sélectionnées pour le projet SAMOSA. *Synechococcus* sp. MVIR-18-1 (bleu), BL107 (vert), WH8102 (orange) et A15-62 (rouge). Données issues du site de la Collection de Cultures de Roscoff (http://roscoff-culture-collection.org/)

Tableau 5| Position phylogénétique, site d'isolement et température moyenne de l'eau de mer au site d'isolement pour les quatre souches de *Synechococcus* utilisées pour cette étude. Les températures sont des données satellite moyennes mesurées sur la période 2000-2010, provenant du site de la National Oceanic and Atmospheric Administration. RCC : Collection de cultures de Roscoff.

Souche	Numéro RCC	Clade	Site d'isolement	Coordonnées d'isolement	Température au site d'isolement (°C)	Type pigmentaire
MVIR-18-1	2385	I	Mer du Nord	+61°0', +1°59'	10,4 ± 0,3	3a
A15-62	2374	II	Large de la Mauritanie	+17°37', -20°27'	23,7 ± 0,4	3d
WH8102	539	III	Mer des Caraïbes	+22°29', -65°3'	27,1 ± 0,1	3c
BL107	515	IV	Mer Méditerranée	+43°43', +3°33'	17,9 ± 0,3	3d

Les *preferenda* thermiques de toutes les souches ont été déterminés en les acclimatant progressivement à une gamme de température la plus large possible (10 à 32°C au total), dans des incubateurs à température contrôlée (Armoire positive statique, TC135 S, Lovibond, Liebherr-Hausgeräte, GmbH). Une journée après repiquage, quatre cultures répliquats de 30 mL (pour chaque souche et chaque température de croissance) ont été échantillonnées à intervalles

réguliers jusqu'à la phase stationnaire de croissance. Les variations de densité cellulaire ont été déterminées par cytométrie en flux (voir «Cytométrie en flux »).

Pour chaque souche et 6 températures de croissance (choisies selon le *preferendum* thermique de chaque souche, entre 10°C, 14°C, 16°C, 18°C, 22°C, 25°C, 28°C et 30°C), trois cultures en répliquats d'un volume de 1L ont été suivies jusqu'au milieu de leur phase exponentielle de croissance. Plusieurs prélèvements ont alors été effectués (Tableau 6) dans le but de i) déterminer la densité cellulaire par cytométrie en flux, ii) étudier la photosynthèse par fluorescence *in vivo* (Fluorométrie PAM) et analyses pigmentaires et iii) analyser le lipidome membranaire.

Tableau 6| Volumes prélevés dans les cultures (tripliquats) de *Synechococcus* spp. MVIR-18-1, A15-62, WH8102 et BL107, acclimatée à 6 températures différentes, en vue des différentes analyses réalisées.

Souches	Volumes prélevés pour chaque paramètre étudié			
	Cytométrie en flux	**Fluorescence *in vivo***	**Analyse pigmentaire**	**Analyse du lipidome membranaire**
MVIR-18-1	2 x 200 µL	2 mL	50 mL	[400-800] mL
A15-62				
WH8102				
BL107				

Afin d'étudier la dynamique de thermoacclimatation du lipidome membranaire de chacune de ces 4 souches, nous avons réalisé des expériences de stress thermiques. Pour cela, les 4 souches de *Synechococcus* ont été cultivées en tripliquats jusqu'en phase exponentielle dans un volume de 3 litres à 22°C, puis transférées subitement à 13°C (stress froid) ou à 30°C (stress chaud), dans les incubateurs à température contrôlée, sous des conditions de lumière identiques. Entre 400 et 800 mL ont été échantillonnés quotidiennement pendant 4 jours pour les analyses de lipidome membranaire, le volume dépendant des conditions de croissance, dans le but d'avoir suffisamment de matériel pour les analyses.

Techniques utilisées

Cytométrie en flux

Des aliquots de cultures de 200 µL ont été fixés 10 min à l'obscurité en présence de 0,25% de glutaraldéhyde (v/v ; grade II, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) et stockés à -80°C. L'ajout de ce fixateur permet une conservation de l'intégrité de la cellule et de ses propriétés de fluorescence jusqu'à l'analyse en cytométrie en flux. Avant l'analyse, les échantillons ont été lentement décongelés et n'ont jamais été recongelés/décongelés.

Lors d'une analyse en cytométrie en flux, l'échantillon contenant les cellules est entrainé par un liquide de gaine dans un capillaire. Chaque cellule passe alors une par une devant un laser, souvent à 488 nm, et plusieurs paramètres décrivant la réponse de la cellule à cette excitation sont enregistrés. La diffusion de la lumière par les cellules à 180° (FSC : *Forward Scattering*) est un paramètre souvent utilisé pour estimer la taille cellulaire. La diffusion à 90° (SSC : *Side Scattering*) est également mesurée et est souvent décrite comme un paramètre de taille/forme de la cellule. Plusieurs filtres permettent de mesurer l'émission de fluorescence des cellules dans des gammes de longueur d'onde différentes. La fluorescence verte, non naturelle, est généralement utilisée dans le cadre d'applications particulières qui mettent en jeu des fluorophores marqueurs. Le niveau de fluorescence orange est souvent liée à la quantité de PE dans les cellules et la fluorescence rouge au contenu cellulaire en chl *a* (Figure 59). Les mesures de diffusion et de fluorescence sont normalisées grâce à des billes autofluorescentes de taille fixe (0,95 µm, Yellow Green, Polysciences) injectées en standard interne avec l'échantillon.

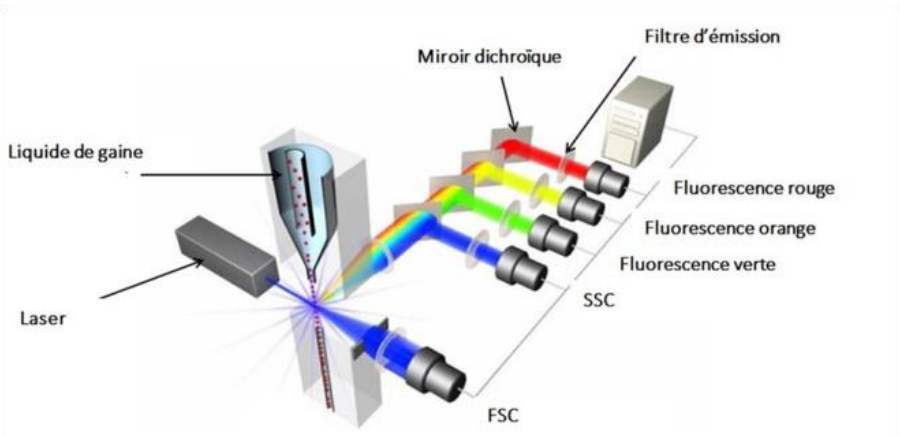


Figure 59| Principe de détection du signal lumineux en cytométrie en flux. FSC : Front Scattering, SSC : Side Scattering.

Les données cytométriques brutes ont été exportées et analysées grâce au logiciel libre de droit Flowing Software 2.5.1 (Turku Centre for Biotechnology, University of Turku, Finland). Les données à la sortie du cytomètre sont représentées sous forme de cytogramme (Figure 60A). Ce sont des résultats de nombre d'évènements (un évènement correspond au passage d'une cellule devant le détecteur) par minute d'analyse. Pour obtenir une densité cellulaire (nombre de cellules par volume de culture), il faut rapporter le temps d'analyse à un volume de culture analysé grâce au flux de l'appareil. Le taux de croissance d'une culture est calculé en déterminant la densité cellulaire en fonction du temps. Dans la partie exponentielle de cette courbe, la pente de la droite Ln(Nt) en fonction du temps est le taux de croissance, où N(t) est la concentration cellulaire à un moment t.

Le contrôle du taux de contamination bactérienne a été effectué régulièrement par cytométrie. Pour cela, du SYBR Green I (Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA) à 0,001 du volume final de l'échantillon fixé a été ajouté, suivi de 10 minutes d'incubation à l'obscurité. Le SYBR Green est un composé fluorescent, qui a la capacité de se lier aux acides nucléiques. Il se fixera donc aussi bien aux cyanobactéries qu'aux bactéries hétérotrophes de l'échantillon. Il est ainsi possible de dénombrer les bactéries contaminantes et de calculer un pourcentage de contamination de la culture de Synechococcus (Figure 60B).

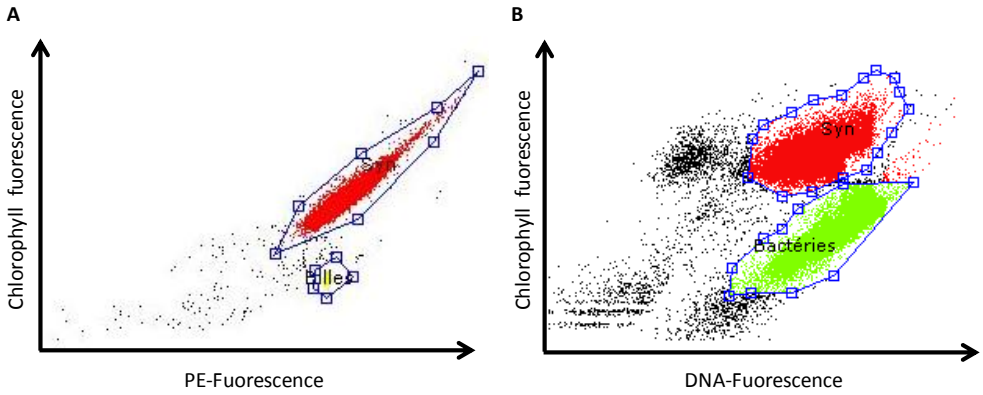


Figure 60| Cytogramme représentant les paramètres mesurés par le cytomètre. (A) Estimation de la population de *Synechococcus* marins, avec billes autofluorescentes. Chl *a* (fluorescence rouge) et PE (fluorescence orange), en rouge, la population d'évènements de cellules de *Synechococcus* et en jaune la population de billes autofluorescentes, et **(B)** Estimation de la contamination bactérienne par ajout de SYBR Green. Chlorophyll, Chl *a* (fluorescence rouge) et DNA (fluorescence verte grâce à l'ajout de SYBR Green), en rouge, la population d'évènements de cellules de *Synechococcus* et en vert la population de bactéries hétérotrophes.

Mesures et analyses des paramètres biophysiques de la photosynthèse (*in vivo*)

Fluorimétrie « Pulse Amplitude Modulation » (PAM)

La fluorimétrie PAM (Pulse Amplitude Modulation) permet la mesure *in vivo* de la fluorescence de la chl *a* du centre réactionnel du PSII (dans le rouge lointain), qui est liée à l'efficacité de l'activité photochimique du complexe. Le caractère fondamental de la relation entre fluorescence de la chl *a* et efficacité de la conversion de l'énergie photosynthétique est due au fait que l'excitation lumineuse peut être convertie uniquement en énergie photochimique, en fluorescence ou, quand ces deux voies sont saturées, dissipée sous forme de chaleur. Ainsi, la relation entre fluorescence et photosynthèse se résume par cette loi :

Fluorescence + photochimie + chaleur = 1

Le fluorimètre PAM utilisé est le modèle PhytoPAM I (Walz, Effelrich, Germany), contrôlé par le logiciel Phyto-Win V1.45. Les flashs de lumière modulée sont générés par des LEDs délivrant 4 longueurs d'onde différentes : bleu (470 nm), vert (520 nm), orange (645 nm) et rouge (665 nm) à une intensité de 600 µmol quanta m^{-2} s^{-1} (trop faible pour déclencher la photosynthèse). La fluorescence rouge du PSII est détectée à 90° grâce à un photomultiplicateur. Il est relié à une carte d'acquisition (Vernier LaBPro) dont l'interface (Logger Pro 3.6.0) permet d'enregistrer le tracé de fluorescence en temps réel.

Afin de maintenir l'enceinte du PhytoPAM accueillant l'échantillon à la température d'expérience, un système d'eau réfrigérée ou chauffée alimenté par un thermovariostat (MultiTemps III, GE) entoure le porte-cuvette du PhytoPAM. Pour l'analyse, 2 mL d'échantillon sont placés dans une cuve plastique à 4 faces claires, de 1 cm de trajet optique.

Le rendement quantique du photosystème II (F_V/F_M)

La mesure du rendement quantique du PSII chez les organismes à PBS est plus délicate que chez les organismes utilisant des antennes intrinsèques aux membranes. Chez les cyanobactéries, le mécanisme des transitions d'état est souvent très marqué et on ne peut mesurer le rendement quantique du PSII à l'obscurité car le PBS est alors couplé au PSI. Une procédure particulière est utilisée.

Après une incubation de l'échantillon 5 min à l'obscurité, la lumière modulée inactinique et de faible intensité (520 nm excitation de la PE ; 4 Hz) est allumée permettant la mesure du niveau basal de fluorescence F_0. Sous cette lumière, les PBS sont couplés au PSI (état 2, voir « Mécanisme de transitions d'état »). Après stabilisation du signal, conjointement à l'ajout de 50 µM de DCMU (3-(3,4 dichlorophényl)-1,1-dimétylurée), la lumière actinique de forte intensité (665 nm, 2000

µmol photons m^{-2} s^{-1}), est allumée, ce qui induit le passage des PBS vers le PSII (état 1). Le DCMU est une molécule autrefois utilisée comme herbicide, qui se fixe au niveau de la quinone Q_B, l'accepteur final des électrons du PSII. Le DCMU empêche ainsi la sortie d'électrons du PSII, et sa réduction par le pool de plastoquinones (Bishop 1958) et les complexes fluorescent à un niveau proche de leur fluorescence maximale. Une fois la stabilisation au niveau quasi maximal de fluorescence, quelques flashes saturants permettent de mesurer le niveau de fluorescence maximale F_M du PSII (Figure 61).

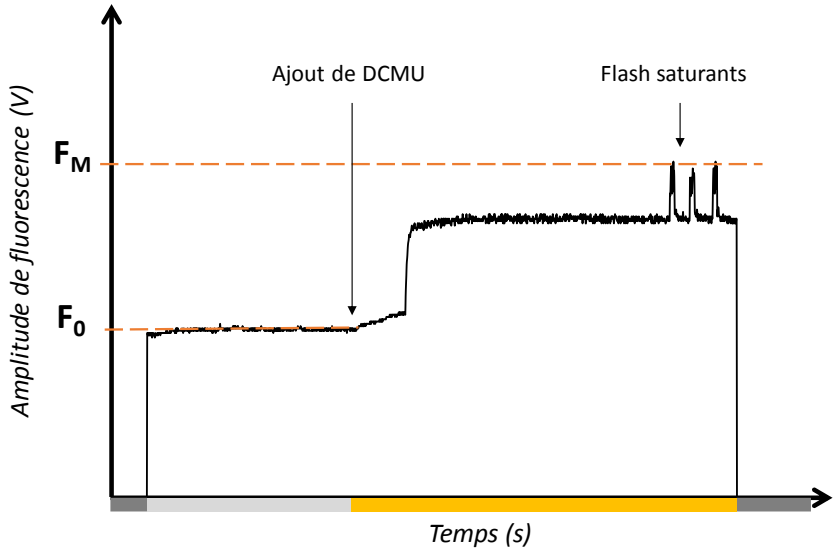


Figure 61| Mesure du rendement quantique du PSII (F_V/F_M) par fluorimétrie à amplitude pulsée et modulée. Phase d'obscurité (gris foncé), phase de lumière modulée (gris clair) et phase de lumière actinique (jaune). **F_0** : niveau basal de fluorescence du PSII à l'obscurité, **F_M** : niveau maximal de fluorescence du PSII.

A partir de ces deux niveau de fluorescence, la proportion de centres réactionnels des PSII fonctionnels est mesurée, ce qui correspond au rendement quantique moyen du PSII dans les cellules (F_V/F_M ; Genty *et al.* 1989). Il est calculé comme :

$$F_V/F_M = (F_M-F_0)/F_M$$

où F_0 est le niveau basal de fluorescence, F_M le niveau maximal de fluorescence et F_V la variation de fluorescence du PSII (Campbell *et al.* 1998; Ogawa *et al.* 2017).

Analyses pigmentaires

En parallèle des mesures de croissance et de photophysiologie, des échantillons ont été collectés pour réaliser des analyses pigmentaires par chromatographie en phase liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) en phase inverse. Cette technique permet de séparer des composés présents dans un échantillon solubilisé en phase homogène

liquide. L'échantillon est entraîné dans un flux de phase mobile liquide au contact d'une phase stationnaire qui est une colonne contenant une matrice carbonée. Chaque espèce moléculaire présente dans l'échantillon migre à une vitesse qui dépend de son affinité avec la phase mobile et la phase stationnaire, qui dépend de sa structure moléculaire. Les molécules séparées sont ensuite détectées par une barrette de diodes qui fonctionne comme un spectrophotomètre (Figure 62).

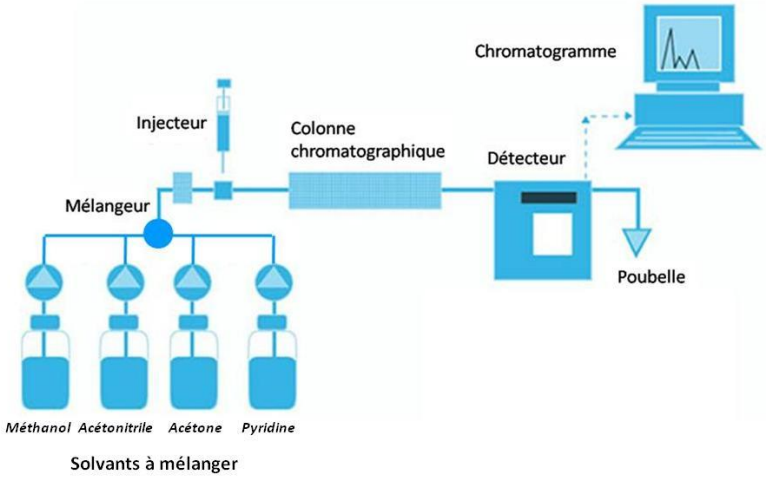


Figure 62| Principe des analyses pigmentaires en chromatographie Liquide Haute Performance. L'échantillon en solution dans un solvant (méthanol à 80%) est injecté par l'injecteur dans le circuit. Chaque pigment est plus ou moins bien retenu sur la colonne chromatographique (composée de carbone) selon sa polarité/hydrophobicité. Le mélange dynamique de solvants permet une élution graduelle des pigments selon leur affinité avec le solvant à un temps d'élution propre à chacun.

Les analyses ont été réalisées avec une chaine HPLC 1100 Series System (Hewlett Packard, St Palo Alto, CA, USA), pilotée par le logiciel ChemStation for LC 3D (Agilent Technologies, Germany). Un volume de culture de 50 mL a été récolté en présence de 0,005% de Pluronic, un surfactant aidant à conserver l'intégrité des cellules et à la centrifugation (concentration finale, Sigma Aldrich) par centrifugation à 4°C (9000g, 7 minutes). Les extraits pigmentaires ont été extraits à 4°C dans 400 µL méthanol à 100% (Fisher Scientific). L'extrait pigmentaire est centrifugé trois fois successives pour éiter l'injection de toute particule dans l'appareil, puis porté à 20% d'eau afin d'éviter la déformation des pics (Zapata and Garrido 1991), et enfin injectés dans une colonne contenant la phase stationnaire (colonne C_8, de fine granulométrie, Symmetry C8, 3,5 µm, 4,6x150 mm, Symmetry Columns). Les pigments sont alors plus ou moins bien retenus sur cette phase selon leur hydrophobicité.

Un mélange de solvants dynamique (Tableau 7) permet une élution graduelle des pigments selon leur affinité avec ce mélange. Les molécules interagissent plus ou moins avec la phase liquide dont les proportions de méthanol (Fisher Scientific), d'acétonitrile (Fisher Scientific), d'acétone (Fisher Scientific), et de pyridine 0,25% (dans de l'eau MilliQ (v/v), Sigma Aldrich) varient

précisément au fil de l'élution (Zapata *et al.* 2000). Les pigments sont tour à tour détectés et quantifiés par un détecteur à barrettes de diodes.

Tableau 7| Gradient d'élution des différents solvants utilisés (d'après Zapata *et al.* 2000)

	Proportion de solvant (%)			
Temps d'élution (min)	**Pyridine 0.25%**	**Méthanol**	**Acétonitrile**	**Acétone**
0	25	50	25	0
12	7	35	48	10
20	0	20	60	20
28	0	20	60	20
30	0	20	60	20
34	0	20	60	20
40	25	50	25	0

Les résultats sont représentés sous forme de chromatogramme qui montre les variations de l'absorbance à 440 nm à la sortie de la colonne en fonction du temps (Figure 63). L'élution des pigments est représentée par une série de pics dont l'amplitude est liée à la concentration du pigment. L'identification des pigments est possible grâce au logiciel qui enregistre, pour chaque pigment détecté, son spectre d'absorption (Figure 20). Pour finalement obtenir les quantités de pigment analysées, il faut intégrer l'aire du pic et utiliser des facteurs de réponse ont été établis en fonction du détecteur sur le principe de la loi de Beer-Lambert.

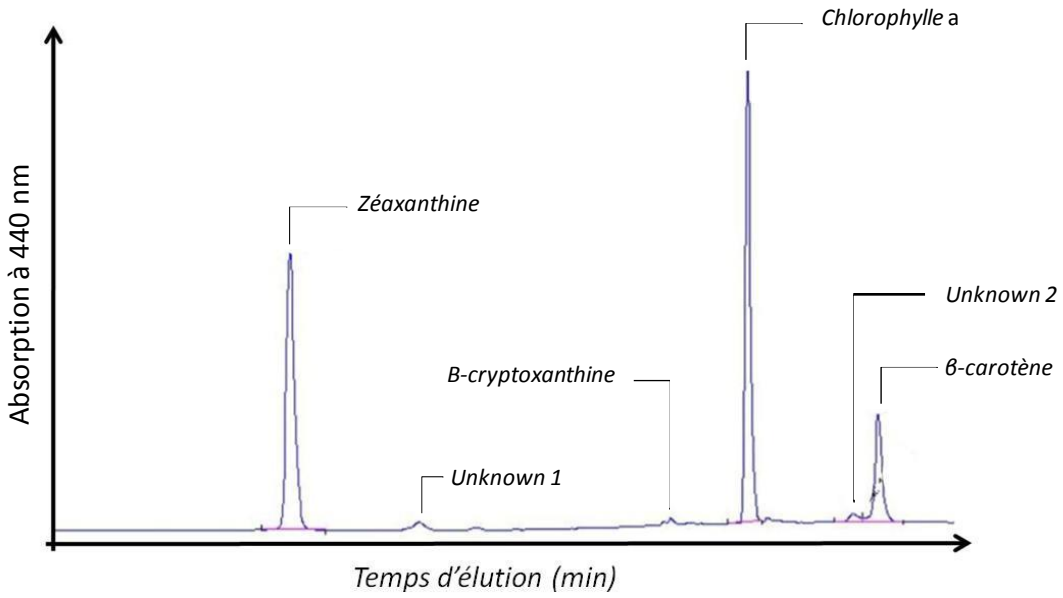


Figure 63| Chromatogramme typique de la souche WH7803 (absorption à 440 nm) cultivée à 18°C sous 20 µmol photons m^{-2} s^{-1}. Les pics représentent les pigments détectés par la barrette de diodes.

Analyses de lipidomique membranaire

Une collaboration avec l'équipe « Biogénèse, Dynamique et Homéostasie des Lipides Membranaires » du Commissariat à l'Energie Atomique de Grenoble (Juliette Jouhet et Eric Maréchal) a été mise en place dans le cadre des analyses des lipidomes membranaires de picocyanobactéries marines. Un long travail de mise en place des protocoles a été réalisé en 2015-2016 par une ancienne étudiante en thèse du laboratoire, Justine Pittera, et appliqué pour l'étude de la souche WH7803 (Pittera *et al.* 2018, Annexe 1). Durant ma première année de thèse, j'ai notamment acquis toute cette méthodologie, indispensable à la préparation d'échantillons de lipidomique membranaire prêts à être envoyés au CEA de Grenoble, pour analyse en spectrométrie de masse (GC-MS et/ou LC-MS).

Récolte des échantillons

Un volume de 400 à 800 mL de cellules est récolté par centrifugation : une première est réalisée à 9000 *g* pendant 20 minutes à 4°C. Le culot obtenu est remis en suspension dans 50 mL de surnageant puis remis à centrifuger 9000 *g*, pendant 10 minutes à 4°C. A la suite de cette centrifugation, le culot est remis en suspension dans 1 à 2 mL de surnageant puis une dernière centrifugation à 14000 *g*, pendant 3 minutes à 4°C est réalisée. Le surnageant est éliminé, et le culot est stocké à -80°C jusqu'à analyse.

Extraction des lipides membranaires

Une fois les culots de cellules récoltés, il faut en extraire les lipides. Pour cela, une extraction par séparation de phase est réalisée, selon une méthode modifiée de Bligh and Dyer (1959) décrite dans Pittera *et al.* (2018) à l'aide des solvants suivants : méthanol/dichlorométhane/eau MilliQ stérile/dichlorométhane (1/0,35/0,5/0,5 [v/v/v/v]). Le culot de cellule est remis en suspension dans du méthanol 100% (Fisher Scientific), dans un tube en verre sodocalcique (Dominique Dutscher). Le tube de stockage est rincé une seconde fois avec du méthanol puis le tube contenant la suspension est bouché est vortexé 2x10 sec. Par ajout successif de dichlorométhane (Sigma-Aldrich) vortexé 2 min puis d'eau MilliQ stérile vortexé 30 sec, les composants cellulaires se séparent dans les différentes phases, en fonction de leur affinité avec les solvants (Figure 64) : la phase supérieure est composée de méthanol et d'eau avec toutes les molécules hydrophiles extraites de la cellule, la phase inférieure (verte) est composée de dichlorométhane avec toutes les molécules lipophiles de la cellule (notamment les différents lipides membranaires). Sa coloration verte est due à la présence des pigments (chlorophylle et caroténoïdes), présents dans les membranes thylacoïdiennes. A l'interface de ces deux phases, une

fraction contient les débris des parois cellulaires et les protéines. La coloration rose est due à la présence PBPs.

Pour faciliter la séparation, la suspension est centrifugée une première fois 1500 *g* 5 min à 4°C et la phase inférieure contenant les lipides est isolée. Dans le but de récupérer le maximum de matériel, une proportion de dichlorométhane est ajoutée à la phase supérieure qui reste et centrifugée une seconde fois. Lorsque la phase inférieure est complètement isolée, une dernière centrifugation 3000 g pendant 5min à 4°C est réalisée pour éliminer tous les débris restants.

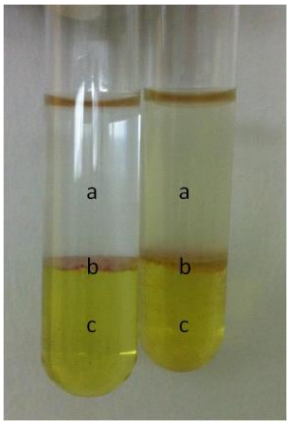


Figure 64| Illustration d'une extraction par séparation de phase selon la méthode de modifiée de Bligh and Dyer (1959), (a) phase composée de méthanol, d'eau et de molécules hydrophiles, **(c)** phase composée de dichlorométhane et des molécule lipophiles. La coloration verte est due à la présence des pigments membranaires La phase à l'interface **(b)** contient les débris des parois cellulaires. La coloration rose est due à la présence des PBPs.

Cette phase est récupérée à l'aide d'une pipette pasteur, évaporée sous flux d'azote (Alphagaz) grâce à un concentrateur simultané (SBHCONC/1, Stuart) dans le but d'obtenir un culot sec qui sera stocké à -20°C jusqu'à envoi au CEA Grenoble.

Régiolocalisation des acides gras sur le glycérol

Une première étape qualitative de définition du lipidome membranaire est nécessaire avant de de passer aux étapes quantitatives : elle vise à identifier toutes les espèces moléculaires de lipide complexe et à régiolocaliser les chaînes d'acides gras sur les positions *sn*-1 et/ou *sn*-2 du glycérol. Il est ainsi ensuite possible de dresser l'inventaire de toutes les espèces moléculaires de lipides présentes dans les membranes. Afin d'être certain de ne pas omettre d'éventuels acides gras induits spécifiquement à certaines températures, nous avons réalisé ces analyses sur trois échantillons d'une souche cultivée à 3 températures d'acclimatation comprises dans leur gamme de température de croissance.

Les échantillons destinés à la régiolocalisation des acides gras correspondent à 400 et 800 mL de culture (selon les conditions de culture, le but étant d'avoir suffisamment de matériel), culottés, extraits et stockés à -80°C jusqu'à analyse (comme décrit ci-dessus).

Afin de pouvoir faire l'inventaire des espèces moléculaires de lipides, il est tout d'abord nécessaire de séparer les 4 grandes classes de lipides membranaires, *i.e.* MGDG, DGDG, SQDG et PG. Ceci a été effectué par Chromatographie sur Couche Mince (*Thin Layer Chromatographie,* TLC). Pour cela, l'extrait lipidique sec est repris dans 40 µL du dichlorométhane 100% (Sigma-Aldrich), dans un tube en verre sodocalcique (Dominique Dutscher), et est déposé sous forme de spot sur une plaque de verre de 20 x 20 cm recouverte de silice (Merck, Darmstadt, Germany). Le tube est rincé 2 fois minimum avec 20µL de dichlorométhane, qui sont déposés sur le spot de la plaque de silice. Une migration en 2 dimensions (Figure 65) est réalisée dans une cuve de chromatographie en verre, dans deux mélanges de solvants différents : lors de la première migration, les lipides sont séparés grâce à un mélange proportionné de dichlorométhane (Sigma-Aldrich), méthanol (Fisher Scientific) et d'eau MilliQ stérile (Tableau 8). Après 1h30 de migration, la plaque est retirée de la cuve et mise à évaporer puis est stockée sur du gel de silice. Après 12h, la plaque est remise dans le solvant pour la deuxième migration dans un mélange de dichlorométhane (Sigma-Aldrich), d'acétone (Sigma-Aldrich), de méthanol (Sigma-Aldrich), d'acide acétique (Sigma-Aldrich) et d'eau MilliQ stérile en proportions définies (Tableau 8). Après 1h20 de migration, la plaque est sortie de la cuve et mise à évaporée sous sorbonne., afin de séparer les différentes classes de lipides selon leur affinité avec les solvants. Les mélanges doivent être préparés minimum 25 min avant la migration, afin de saturer l'atmosphère de la cuve en vapeurs de solvants.

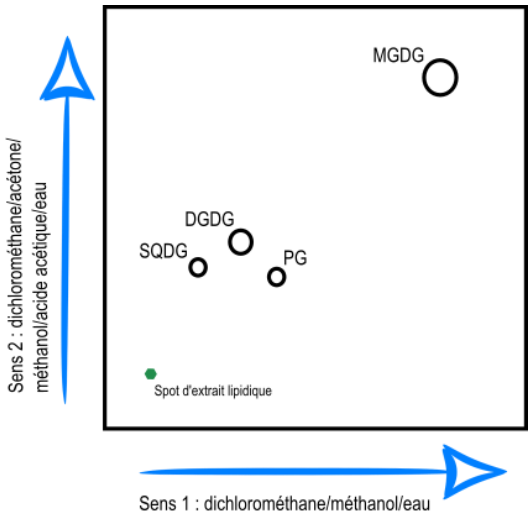


Figure 65| Schématisation de la plaque de TLC, des sens de migrations des lipides majoritaires des membranes et de leurs positions finales sur la plaque après séparation.

Tableau 8| Tableau récapitulatif des volumes de solvants à verser dans la cuve de migration des TLC (Pittera *et al.* 2018)

Solvant de migration SENS 1, durée de migration 1h30 environ	
Solvant	**Volume (mL)**
Dichlorométhane	65
Méthanol	25
Eau MilliQ stérile	4
Solvant de migration SENS 2, durée de migration 1h20 environ	
Solvant	**Volume (mL)**
Dichlorométhane	50
Acétone	20
Méthanol	10
Acide acétique	10
Eau	5

Une fois les migrations terminées, une solution de primuline (Sigma Aldrich, 0,05 g/L, dans une solution de méthanol) est pulvérisée sur la plaque. Après 10 minutes d'incubation, la plaque est placée sous révélateur à lumière UV/bleue (High Performance UV Transilluminator, UltraViolet Products, DBA Analytik Jena US) afin d'identifier les spots de chaque classe de lipide (Figure 68A). Chaque spot est ensuite isolé de la plaque par grattage (Figure 68B) et chaque classe de lipide est extraite du spot selon la méthode de Bligh and Dyer (1959) puis stockés à -20°C jusqu'à l'envoi à Grenoble (voir ci-dessus).

Afin de déterminer la nature de tous les acides gras (longueur de chaine et niveau d'insaturation) liés sur une classe lipidique donnée, ainsi que leur position (*sn*-1 ou *sn*-2) sur le glycérol, chaque échantillon est analysé en spectrométrie de masse par l'équipe Biogénèse, Dynamique et Homéostasie des Lipides Membranaires du CEA de Grenoble selon la méthode décrite par Jouhet *et al.* (2017).

Les culots secs ont été repris dans une solution de méthanol contenant 10 mM d'acétate d'ammonium. Les lipides ont ensuite été injectés directement (ESI-MS) dans la trappe du spectromètre de masse (LTQ-XL, Thermo Scientific), et leur identification a été confirmé par MS/MS (double spectrométrie de masse) comme décrit par Abida *et al.* (2015). Dans ces conditions, les espèces produites étaient toujours présents sous forme de produits H^-, H^1, $NH_4{}^1$ ou Na^1. Les espèces d'acides gras estérifiés et leurs positions *sn*-1 ou *sn*-2 du glycérol des lipides purifiés ont été identifiés par MS/MS. En fonction de l'espèce et du produit d'addition ionique (H^-, H^1, $NH_4{}^1$ ou Na^1), les substituants aux positions *sn*-1 et *sn*-2 étaient différemment clivés lors de la dissociation induite par une collision à faible énergie. Cela s'est reflété dans les analyses MS/MS par l'absorption

préférentielle de l'un des deux acides gras, conduisant à une abondance dissymétrique des fragments de collision. L'identification est possible grâce aux schémas de dissociation suivants des fragments obtenus en MS/MS décrits précédemment (Abida *et al.* 2015).

Quantification relative des espèces moléculaires de lipides membranaires

Une fois que la régiolocalisation est réalisée, la deuxième étape consiste à quantifier les différentes espèces moléculaires pour chaque lipide complexe, qui sont définies par les différents acide gras fixés sur les positions *sn*-1 ou *sn*-2 du glycérol. Cette étude se subdivise en deux étapes.

Tout d'abord, la quantification des acides gras totaux de l'échantillon de lipides permet de déterminer la quantité d'échantillon à injecter en LC-MS/MS, afin d'être au-dessus des seuils de détection mais surtout en dessous des seuils de saturation (voir ci-dessous). Cette étape consiste à tout d'abord dériver les acides gras en les méthylant au niveau de la fonction carboxylique (Jouhet *et al.* 2017). Pour cela, 5 µg de 15:0 a été ajouté aux échantillons de lipide en tant que standard interne, puis les acides gras ont été méthylés par une incubation de 1h à 100°C dans 3 mL d'une solution de méthanol pur à 2,5% de H_2SO_4. La réaction a été arrêtée par addition de 3 mL d'eau et de 3mL d'hexane. La phase contenant l'hexane a été analysée par chromatographie couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID, Perkin Elmer) avec une colonne BPX70 (SGE).

Pour la quantification des espèces moléculaires de chaque lipide, une quantité d'extrait lipidique correspondant à 25 nmol d'acides gras totaux, dissouts dans 100 µL d'un mélange chloroforme/méthanol [2/1 (v/v)] a été analysée en LC-MS/MS, c'est-à-dire injectés dans une chaine HPLC afin d'être séparés, puis dans un spectromètre de masse (Jouhet *et al.* 2017). La séparation par HPLC a été réalisée sur un HPLC Agilent 1200 HPLC system et une colonne 150 mm x 3 mm x 5 µm (Macherey-Nagel) maintenue à 40°C. La phase mobile était constituée de deux mélanges de solvant (i) hexane/isopropanol/eau/acétate d'ammonium à 1M, pH 5,3 selon les proportions suivantes : 625/350/24/1 (v/v/v/v) et (ii) isopropanol/eau/acétate d'ammonium 1M, pH 5,3 selon les proportions suivantes : 850/149/1 (v/v/v). Un volume de 20 µL d'échantillon a été injecté sur la phase stationnaire. Après 5 min, le pourcentage du volume de la solution B augmente de façon linéaire, passant de 0% à 100% au bout de 30 min et est maintenu à 100% pendant 5 minutes à un flux de 200 µL min^{-1}. Les différents lipides sont éluées successivement en fonction de la tête polaire. Une fois ces dernières séparées, l'analyse par spectrométrie de masse permet d'analyser chacun des acides gras estérifiés aux deux positions des glycérols des têtes polaires (Figure 66).

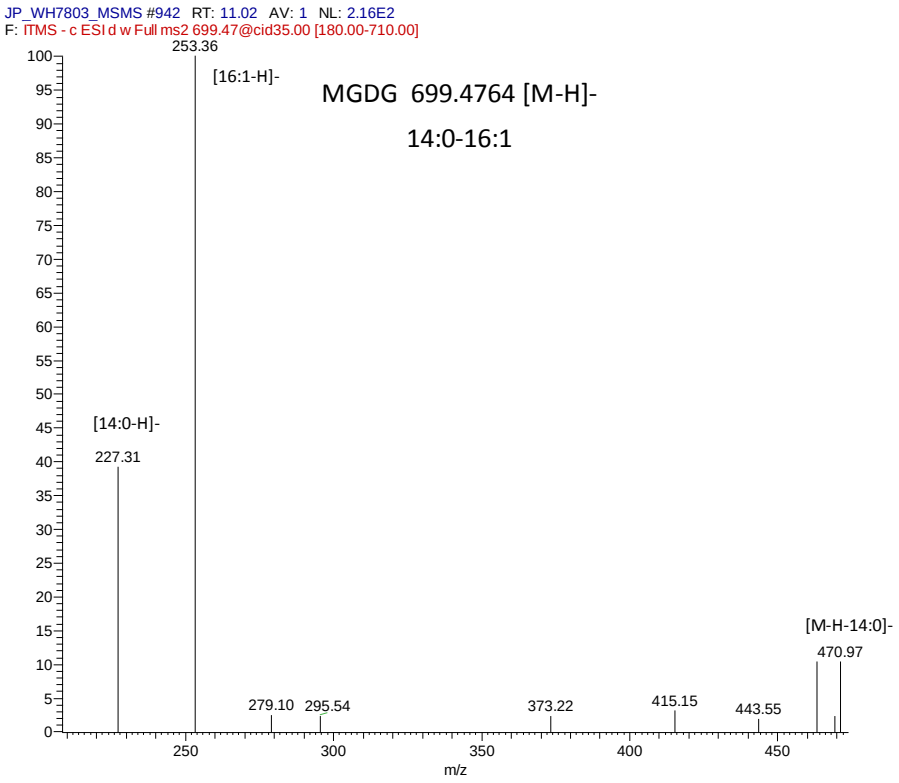


Figure 66| Exemple de chromatogramme obtenu après la LC/MS. Ici l'exemple du MGDG.

Cette analyse est réalisée sur un spectromètre de masse Agilent 6460 à triple quadripôles équipé d'une source d'ions avec les caractéristiques suivantes : séchoir à gaz : 260°C à 13 l min^{-1}, réchauffeur de gaz : 300°C à 11 l min^{-1}, pression du nébuliseur 25 psi, Voltage ±5000V, ajutage ±1000V. l'azote a été utilisé comme gaz de collision. Les quadripôles Q1 et Q3 ont été fixés respectivement à la résolution la plus large et la résolution unitaire. Les analyses du SQDG ont été réalisées en mode ionique négatif en recherchant des précurseurs de m/z -225 à un CE de 256 eV.

En spectrométrie de masse, *m* représente la masse et *z* représente le nombre de charge des ions. Un électron est extrait des molécules pour créer des ions chargés uniques. Si deux électrons sont éliminés, des ions doubles chargés sont produits. Le nombre d'électrons retirés est le nombre de charges (pour les ions positifs). Le rapport *m/z* représente la masse divisée par le nombre de charges (et l'axe horizontal dans un spectre de masse est exprimé en *m/z*). La quantification a été réalisée par surveillance des réactions multiples (*multiple reaction monitoring, MRM*) de toutes les molécules détectées grâce aux TLC avec un temps de pause de 100 ms. Les résultats obtenus permettent une bonne estimation de la quantité de chaque espèce moléculaire de lipide membranaire dans un échantillon.

Chapitre 2

Stratégies de thermorégulation de la composition en lipides membranaires chez les *Synechococcus* marins



Station Biologique de Roscoff (29), le laboratoire particulier du Directeur

Contexte de l'étude

Les *Synechococcus* marins sont parmi les plus petites cellules autotrophes sur Terre mais sont responsables d'environ 17% de la production primaire nette marine globale (Flombaum *et al.* 2013). La plupart de ces picocyanobactéries sont regroupées dans le sous-cluster 5.1, constitué d'environ 15 à 18 clades et d'une trentaine de sous-clades selon les analyses phylogénétiques basées sur le gène *pet*B (Mazard *et al.* 2012; Herdman *et al.* 2015; Farrant *et al.* 2016). Plusieurs études phylogéographiques ont montré que 4-5 clades dominent les océans (*i.e.* I, II, III, IV, CRD1) et peuplent différentes régions océaniques présentant des spécificités environnementales. En effet, les clades I et IV habitent des régions mésotrophes, froides ou tempérées froides, alors que les clades II et III sont retrouvés dans des eaux chaudes, le clade III préférant des eaux plus oligotrophes que le clade II (Zwirglmaier et al. 2008; Sohm et al. 2016; Paulsen et al. 2016). Plusieurs travaux ont montré que des souches représentatives de ces clades présentent des *preferenda* thermiques de croissance en accord avec la gamme de température de leur habitat (Pittera *et al.* 2014; Mackey *et al.* 2013; Varkey *et al.* 2016; Moore *et al.* 1995). Ces lignées génétiquement distinctes et physiologiquement spécialisées dans différentes niches thermiques sont appelées « écotypes » de température (Coleman et Chisholm en 2007).

Les bases physiologiques sous-tendant ces processus évolutifs de diversification écotypique restent très peu connues. Plusieurs études suggèrent que les capacités d'adaptation des mécanismes photosynthétiques à différentes températures pourraient constituer un goulot d'étranglement pour la compétitivité des organismes dans différentes niches thermiques. En particulier, il a été montré que les PSII de différents thermotypes de *Synechococcus* sont différemment affectés par un stress thermique et leur antenne photosynthétique, le PBS, a une stabilité fonctionnelle différente en accord avec leur *preferenda* thermique (Pittera *et al.* 2014; 2017; Varkey et al., 2016). Une autre composante impactant directement le fonctionnement de l'appareil photosynthétique à différentes températures est la matrice lipidique des membranes thylacoïdiennes. Les membranes font partie des composantes cellulaires les plus thermosensibles, car la température affecte considérablement leur fluidité et leur perméabilité et, par conséquent, l'activité des protéines qui y sont insérées (Mikami and Murata 2003). Ainsi, la capacité à moduler la fluidité membranaire, notamment au niveau des thylacoïdes, peut être d'une importance primordiale pour la capacité d'adaptation d'un organisme photosynthétique à une niche thermique spécifique.

La matrice des membranes des cyanobactéries sont principalement composées de quatre lipides : trois glycolipides majoritaires que sont le MGDG, le DGDG et le SQDG ainsi qu'une plus petite proportion d'un phospholipide, le PG. Alors que de nombreuses études ont été menées sur la thermorégulation des membranes des cyanobactéries d'eau douce, les études de la composition des membranes et l'impact de la température chez les cyanobactéries marines sont très rares. Une étude a toutefois récemment montré que la souche marine modèle *Synechococcus* sp. WH7803 induit un raccourcissement des chaînes d'acides gras sur la position *sn*-1 des galactolipides et est capable de mécanismes de désaturation de sites spécifiques sur les trois glycolipides (Pittera *et al.* 2018).

Les insaturations peuvent être insérées de façon dynamique dans les chaînes d'acides gras grâce à des enzymes appelées « lipide-désaturases » dont le site catalytique comprend des boites histidine, coordonnant un centre ferrique non-hémique, et dont l'activité nécessite des électrons et de l'oxygène (Los and Murata 1998). Les études génomiques de la composition en gènes de désaturases chez les *Synechococcus* marins ont montré la présence de quatre enzymes différentes dans leurs génomes, incluant deux désaturases Δ9 (*desC3* and *desC4,* désaturant au carbone 9) et deux désaturases Δ12 (*desA2* and *desA3,* désaturant au carbone 12; Chi *et al.* 2008; Varkey *et al.* 2016). Une étude plus approfondie des profils phylétiques de ces quatre gènes a montré que les souches représentatives des clades de *Synechococcus* marins dominants les océans présentaient des compositions en désaturases différentes, suggérant que les capacités de désaturation pourraient être une des clés de leur adaptation à différentes niches thermiques (Pittera *et al.* 2018). Cependant, nos connaissances actuelles sur la composition et les processus précis de thermoacclimatation du lipidome membranaire des *Synechococcus* marins sont très limitées et il est impossible de comprendre si différents thermotypes utilisent différents processus pour s'acclimater à la température.

Dans cette étude, nous avons étudié la croissance et plusieurs aspects de la photosynthèse de quatre souches de *Synechococcus* marins appartenant aux clades I, II, III et IV, isolées dans différentes niches thermiques (voir « Matériels et Méthodes »). Nous décrivons leur composition complète en lipides membranaires et nous dévoilons les différentes stratégies physiologiques utilisées par ces écotypes de température pour l'ajustement de la fluidité de la membrane dans leurs différentes niches thermiques. Ce chapitre se base sur un manuscrit en cours de rédaction, d'où les figures en anglais.

Résultats

Preferenda thermiques et activité photosynthétique

Les quatre souches de *Synechococcus* ont été acclimatées sur une gamme totale de température allant de 10°C à 32°C afin de définir pour chacune d'entre elles leur *preferendum* thermique, c'est-à-dire leurs limites et *optima* thermiques de croissance (Figure 67A, page 119). Dans nos conditions de culture, les *preferenda* des souches diffèrent plus par leurs limites thermiques de croissance que par leurs températures optimales de croissance. La souche subpolaire MVIR-18-1 (bleu, appartenant au clade I) a présenté une croissance significative jusqu'à 10°C mais ne pouvait pas pousser à des températures supérieures à 26°C. La souche tempérée-froide BL107 (vert, appartenant au clade IV) a poussé entre 14°C et 28°C. La souche tempérée-chaude WH8102 (orange, du clade III) a poussé entre 14°C et 32°C et la souche tropicale A15-62 (rouge, du clade II) a poussé entre 13°C et 34°C. Dans le cadre d'une collaboration avec David Demory (Observatoire de Villefranche-sur-mer), un modèle de croissance phytoplanctonique a été ajusté sur les données de taux croissance (Bernard & Rémond 2012 ; Tableau 9). Les résultats mettent notamment en évidence le fait que les souches de basse latitude sont capables de pousser à des températures maximales clairement plus élevées que les souches isolées à de plus hautes latitudes.

Tableau 9| Valeurs limites et optimales des *preferenda* thermiques de croissance des souches de *Synechococcus* utilisées dans cette étude : *Synechococcus* spp. MVIR-18-1 (clade I), A15-62 (clade II), WH8102 (clade III) et BL107 (clade IV). Les valeurs de température minimales sont expérimentales. Les valeurs optimale et maximale ont été déterminées après ajustement du modèle de croissance phytoplanctonique de Bernard et Rémond (2012) par David Demory. Min., minimale, opt., optimales, max. maximale.

Souche	Clade	Température min. (°C)	Température opt. (°C)	Température max. (°C)
MVIR-18-1	I	< 10	25,0	26,7
A15-62	II	16	28,7	32,0
WH8102	III	16	25,3	33,0
BL107	IV	14	22,7	29,7

Le rendement quantique du PSII (F_V/F_M), mesuré par fluorimétrie PAM, est resté relativement haut sur toute la gamme de températures de croissance des quatre souches (Figure 67B, page 119). Ces valeurs sont un peu plus faibles aux températures basses pour la souche

tempérée chaude WH8102 et la souche tropicale A15-62 et dans les températures chaudes pour la souche subpolaire MVIR-18-1.

Les analyses pigmentaires ont révélé la présence de zéaxanthine, de β-cryptoxanthine, de chl *a*, de β-carotène et de quelques autres xanthophylles mineures dont l'identité est inconnue. Pour les quatre souches, le rapport massique de zéaxanthine : chl *a* est plus élevé à basse température qu'à haute température (Figure 67C, page 119). Ce rapport était globalement plus élevé pour les souches subpolaire MVIR-18-1 et tempérée-froide BL107 que pour les deux autres souches. Ces variations sont probablement dues à l'augmentation du contenu cellulaire en zéaxanthine, comme le suggère l'augmentation du rapport zéaxanthine : β-cryptoxanthine (précurseur direct de la zéaxanthine dans la voie biosynthétique). Il est également probable que le contenu cellulaire en chl *a* ait diminué. De plus, dans toutes les souches, le rapport β-carotène : chl *a* est faible à basse température et augmente à haute température (Figure 67D, page 119), suggérant une augmentation du contenu cellulaire en β-carotène. Cette tendance était plus prononcée pour les souches tempérée chaude WH8102 et tropicale A15-62.

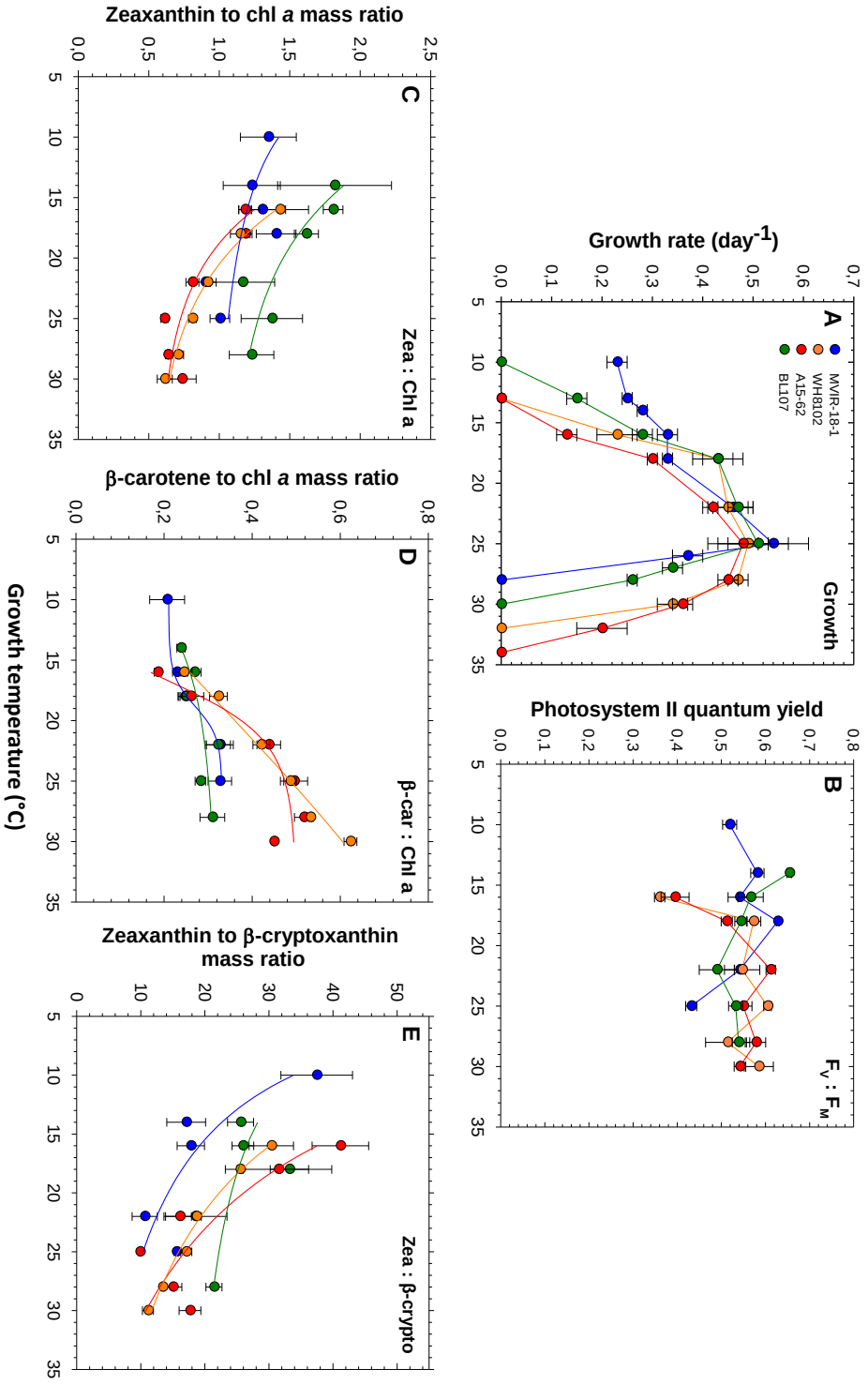


Figure 67| Variations du taux de croissance (A), du rendement quantique du PSII (B), et des rapports de contenu en pigments membranaires (C, D, E) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées 3 à 4 fois.

Analyse du lipidome membranaire

Composition générale du lipidome membranaire

Les TLC ont révélé la présence de 4 spots majoritaires correspondant aux classes de lipides généralement observées chez les cyanobactéries : MGDG, DGDG, SQDG et PG. Ces analyses ont également révélé des sports dont l'identité est inconnue (Figure 68). Dans la majorité des échantillons, les deux galactolipides étaient les lipides majoritaires des membranes. Les analyses en spectrométrie de masse ont révélé que les acides gras estérifiés sur ces lipides étaient majoritairement des C14 et des C16, avec quelques traces de C18. Ces chaines acyl ne présentaient jamais plus que 2 insaturations. Les positions *sn*-1 portent généralement des espèces d'acides gras en C16, alors que les positions *sn*-2 ne portent que des espèces en C14 chez les galactolipides (Figure 74, page 128 et Figure 75, page 129) et peuvent porter les deux chaines, C14 ou C16, pour le SQDG (Figure 76, page 130). Le PG ne représentait quant à lui qu'une composante mineure dans nos échantillons, liant des acides gras majoritairement C16 (Figure 77, page 131). Au total, environ 30 espèces moléculaires différentes de lipides complexes ont été détectées chez les souches de *Synechococcus* marins étudiées.

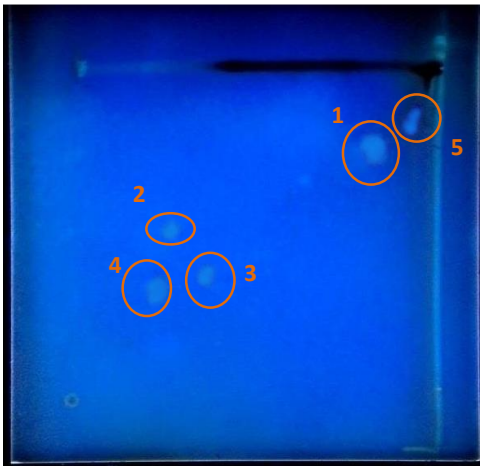


Figure 68| Photographie d'une TLC réalisée sur un extrait lipidique de la souche WH8102 à 29°C. Révélation des classes de lipides sous lumière UV en présence de primuline1 : inconnu ; 2 : DGDG ; 3 : PG ; 4 : SGDQ et 5 : MGDG.

Réponse du lipidome membranaire à la température

Les données lipidomique de composition en acides gras de chaque classe lipidique, pour chaque souche et chaque température de croissance (cultures acclimatées), sont exposées sous forme de diagrammes synthétiques (Figure 69 à Figure 73) et sous forme de grands tableaux pour une vue plus détaillée (Annexe 3 à 7). Les données concernant les variations de contenu en acides gras de chaque classe lipidique à des variations rapides de température (expériences de stress

thermique « *shifts* ») sont exposées sous forme de panels de graphiques, ordonnés par souche, niveau de saturation et par position *sn* (Figure 78 à Figure 85). Ces données sont consultables à la fin de ce paragraphe (pages 132 à 139).

Après une étude approfondie des données sur cultures acclimatées, nous avons calculé un certain nombre de rapports molaires d'acides gras, dont les variations illustrent les principaux mécanismes mis en place par les quatre souches cultivées à six températures. Ces données traitées sont détaillées ci-après. Les données de stress thermique, étudiées en parallèle, permettent une appréciation de la dynamique de ces mécanismes.

Variations de l'épaisseur de la membrane en réponse à la température

Pour représenter les variations de l'épaisseur de la membrane en fonction de la température, nous avons utilisé comme indicateur le rapport molaire C14:C16 (quel que soit le niveau d'insaturation), les acides gras largement majoritaires chez toutes les souches. Comme chez la souche *Synechococcus* sp. WH7803, les variations du rapport C14 : C16 ont eu lieu en position *sn*-1 pour les lipides les plus abondants : MGDG et DGDG (Pittera *et al.* 2018) et en position *sn*-2 du SQDG. Les résultats ont montré une augmentation de ce rapport à basse température chez les galactolipides, uniquement pour les souches subpolaire MVIR-18-1 et tropicale A15-62 (Figure 69). Cette dernière a probablement la membrane la plus fine des quatre souches étudiées avec des teneurs de C14 élevées pour le MGDG (Annexe 7 page 213). MVIR-18-1 est, quant à elle, également capable de diminuer la longueur de ces chaînes d'acides gras estérifiés en position *sn*-2 du SQDG en réponse à une baisse de température (Annexe 4 page 205). Les souches tempérées froide BL107 et chaude WH8102 ont montré une légère diminution de ce rapport à basse température, et donc par conséquent un très léger épaississement des membranes. Pour les cultures acclimatées à cultivées à 22°C ayant subi une variation rapide de température, ces variations d'épaisseur de membrane n'étaient que très modérées, suggérant que des mécanismes demandant plus de temps sont à l'œuvre.

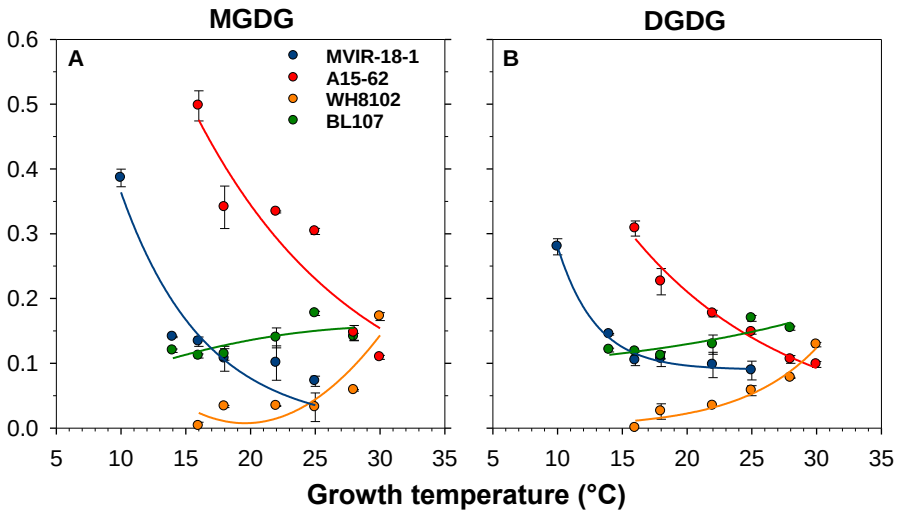


Figure 69| Variations du rapport molaire C14:C16 indiquant la longueur moyenne des espèces d'acides gras estérifiés en position *sn*-1 du monogalactosyldiacylglycérol (A, MGDG) et du digalactosyldiacylglycérol (B, DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), B107 (vert), WH8102 (orange) et A15-62 (rouge), acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées quatre fois.

Monoinsaturation des acides gras fixés en position *sn*-1 des glycolipides

Les niveaux de monoinsaturation ont été étudiés en calculant les rapports molaires C16:1 : C16:0 et C14:1 : C14:0. Le niveau de monoinsaturation des chaînes en C16 des deux galactolipides a augmenté chez la plupart des souches en réponse à une baisse de la température de croissance (Figure 70A et C). Le MGDG (Figure 70A et B) a montré des variations du rapport C16:1 : C16:0 plus importantes que le DGDG. (Figure 70C et D). Des variations similaires du rapport ont été observées pour le SQDG (Figure 70E). En ce qui concerne la comparaison des souches, les variations sont toutes beaucoup plus amples pour les souches subpolaires MVIR-18-1 et tempérée-froide BL107 que pour les souches adaptées à des environnements plus chauds. Les expériences de stress thermique ont montré une induction d'activité de monodesaturation du C16 :0 surtout pour le DGDG et le SQDG, visibles par des variations complémentaires du C16 :0 et C16 :1 au cours du temps (Figure 78,Figure 79 et Figure 80).

En réponse à des températures de croissance basses, les proportions de chaines en C14:1 estérifiées sur la position *sn*-1 du MGDG ont augmenté pour toutes les souches à l'exception de WH8102 (Figure 70B, D et F). La souche subpolaire MVIR-18-1 a montré la plus grande variation. Il est probable que les variations du rapport C14:1 : C14:0 résultent du remplacement des chaines C16 par des chaines C14:1 dans les molécules MGDG nouvellement synthétisées, plutôt que d'une désaturation *in situ* des chaines C14:0 par les lipide-désaturases, induisant le raccourcissement de la chaîne mentionné dans le paragraphe précédent. Cette hypothèse est supportée par le fait qu'il n'y a pas eu de baisse de proportion de chaines en C14:0 ni dans les échantillons acclimatés ni dans

les échantillons ayant subi une variation rapide de température, une synthèse *de novo* demandant probablement plus de temps (Figure 78, Figure 79 et Figure 80A, D, G et J).

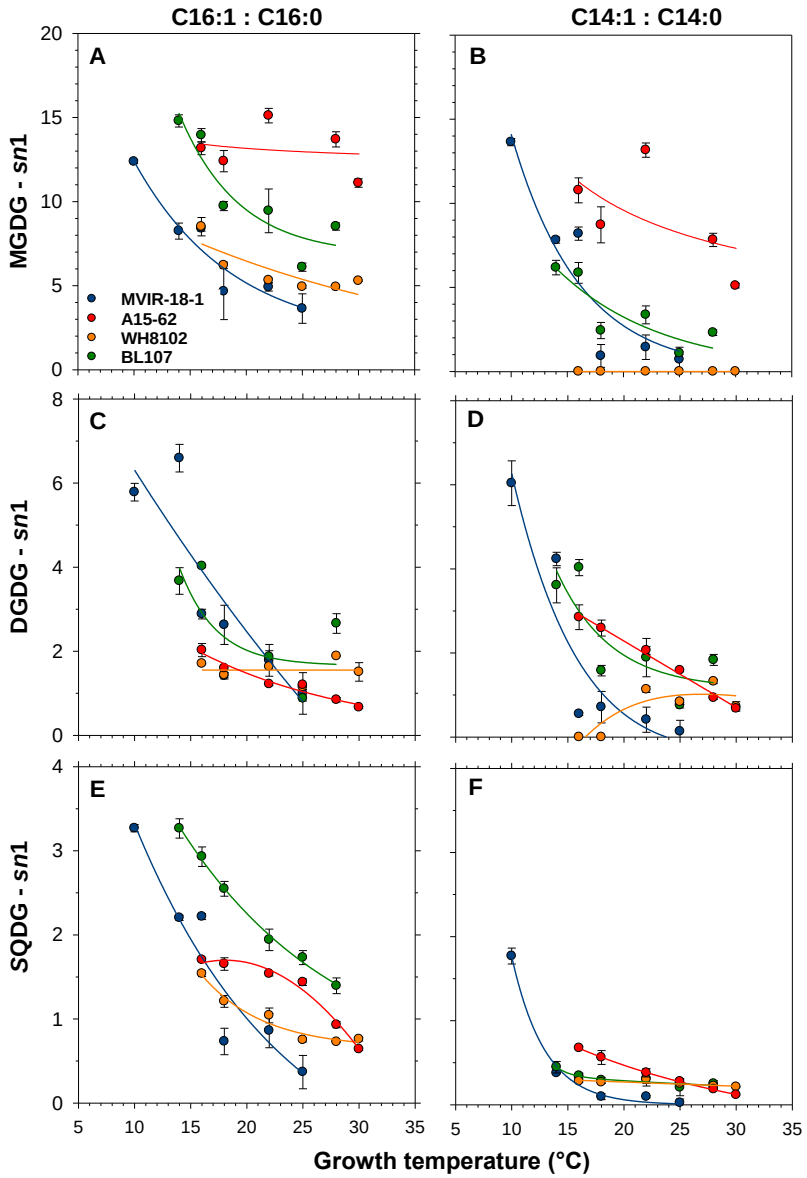


Figure 70| Variation du niveau de monoinsaturation, exprimé par le rapport molaire de C16:1 : C16:0 (A, C et E) et C14:1 : C14:0 (B, D et F), des acides gras estérifiés à la position *sn*-1 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A et B), digalactosyldiacylglycérol (DGDG, C et D) et sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG, E et F) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

Monoinsaturation des acides gras fixés en position *sn*-2 des glycolipides

Les galactolipides ne lient que des acides gras C14 à la position *sn*-2. Les proportions de chaînes en C14:1 ont augmenté à cette position du MGDG pour les souches MVIR-18-1, BL107 et WH8102 en réponse à une baisse de température de croissance, cette dernière souche montrant de plus amples variations (Figure 71). Des variations très comparables ont été observées au cours

des expériences de variations thermiques rapides (Figure 78 C, F, I et L) suggérant l'activité *in situ* d'une désaturase Δ9. On observe sur le DGDG des variations similaires mais un peu plus faibles (Figure 71).

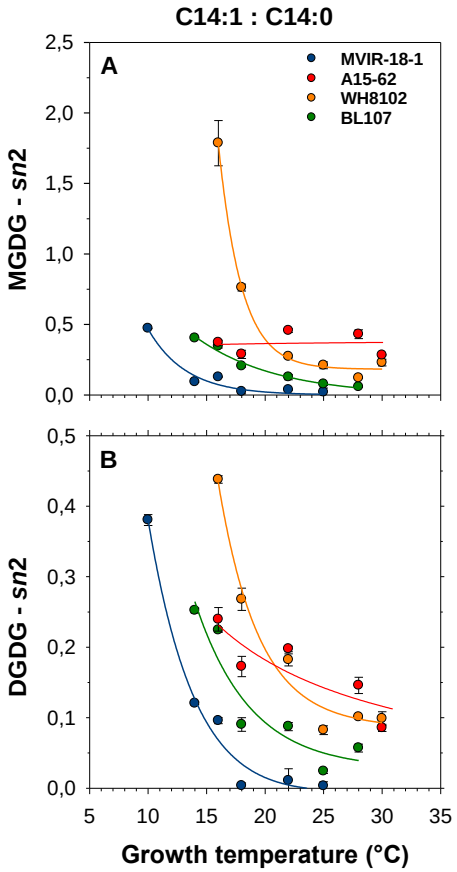


Figure 71| Variation du niveau de monoinsaturation, exprimé par le rapport molaire C14:1 : C14:0 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A) et du digalactosyldiacylglycérol (DGDG, B) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

La position *sn*-2 du SQDG porte des chaînes d'acides gras en C14 et en C16 à proportions souvent comparables (Figure 76). La monodésaturation des espèces en C16:0 a été induite en réponse à une baisse de température chez les quatre souches étudiées avec, une fois encore, une amplitude plus forte pour les souches subpolaire MVIR-18-1 et tempérée-froide BL107 (Figure 72A). Nous avons également observé une légère augmentation des proportions d'espèces en C14:1 particulièrement pour la souche subpolaire MVIR-18-1 (Figure 72B).

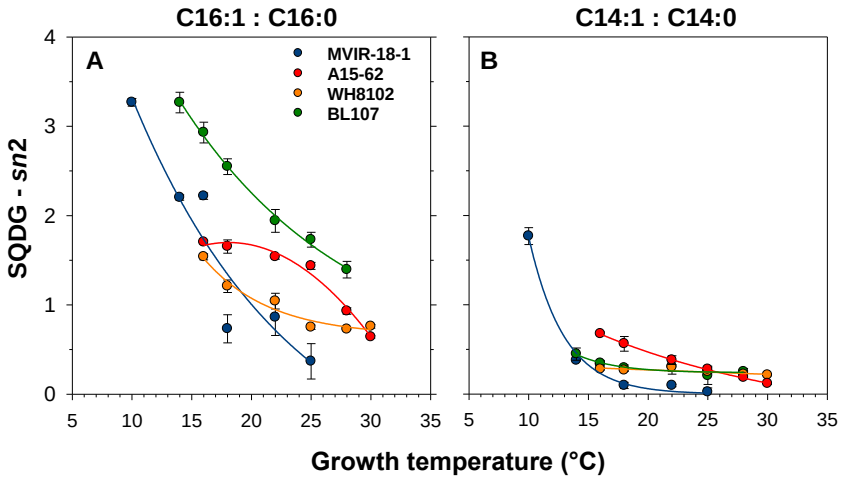


Figure 72| Variations du niveau de monoinsaturation, exprimé par (A) le rapport molaire C16:1 : C16:0 et (B) le rapport molaire C14:1 : C14:0 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

Double insaturations des acides gras

Pour étudier le niveau de double insaturations des chaînes d'acides gras des différents lipides, nous avons utilisé le rapport C16:2 : C16:1 (Figure 73). De façon intéressante, les doubles insaturations sont insérées quasiment exclusivement sur les chaines en C16 localisées à la position *sn*-1 des deux galactolipides. Le niveau global de ces doubles insaturations étaient plus forts pour les souches tempérée chaude et tropicale, *Synechococcus* WH8102 et A15-62, alors que les C16:2 ont été à peine détectés chez les souches subpolaire MVIR-18-1 et tempérée-froide BL107. Notons également que la souche tempérée chaude WH8102 a fortement induit la synthèse de C16:2 en réponse à une baisse de température en position *sn*-1 du MGDG, et dans une moindre mesure, du DGDG. Cette forte capacité d'induction de C16:2 a également été observée chez WH8102 au cours des expériences de stress thermique (Figure 80H).

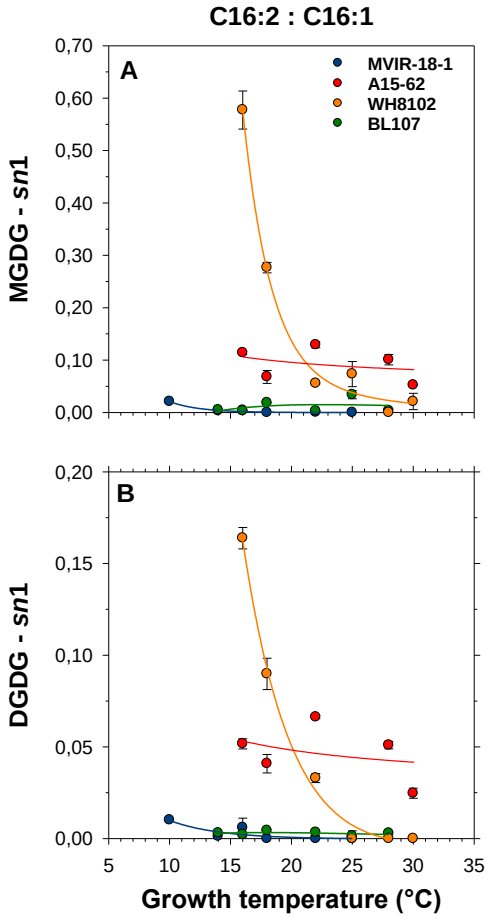


Figure 73| Variation du taux de double désaturation, exprimé par le rapport molaire C16:2 : C16:1 des acides gras estérifiés à la position *sn*-2 du monogalactosyldiacylglcérol (MGDG, A) et du digalactosyldiacylglycérol (DGDG, B) pour les quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

Le cas particulier du phosphatidylglycérol

Nos résultats montrent la présence de C18 (3 à 25%, Figure 77A, B et D), avec majoritairement du C18:1 et quelques traces de C18:0 et de C18:2 chez les souches non-axéniques MVIR-18-1, BL107 et A15-62. Il est bien connu que les membranes de la plupart des bactéries hétérotrophes marines sont majoritairement composées de phospholipides riches en C18, dont le PG (Sohlenkamp and Geiger 2015), qu'elles ont donc en commun avec les cyanobactéries. Les souches axéniques WH8102 et WH7803 présentent des structures de PG qui ne présentent quasiment pas de C18, ce qui suggère fortement que les chaines C18 (et donc d'autres chaines acyl) du PG des souches non axéniques proviennent des bactéries hétérotrophes contaminantes. Nos résultats de composition du PG pour les trois souches de *Synechococcus* non-axéniques sont donc difficilement interprétables.

Cependant, en se référant principalement à la souche axénique WH8102, on constate que la composition en acides gras du PG est très différente des trois autres lipides, tout comme pour la souche axénique WH7803 étudiée par Pittera *et al.* (2018). Ce phospholipide ne lie aucun C14 et ne contient quasiment que des chaines C16 (Figure 77). La position *sn*-2 lie une proportion plus importante de C16:1 alors que l'acide gras de la position *sn*-1 est la plupart du temps toujours saturé. Ce lipide, souvent minoritaire dans les membranes, ne présente pas de variation marquée de composition en réponse à la température, que ce soit pour les cultures acclimatées sur le long terme ou pour les expériences de stress thermique (Figure 77Figure 81Figure 85). Des observations similaires ont été faites chez la souche modèle WH7803.

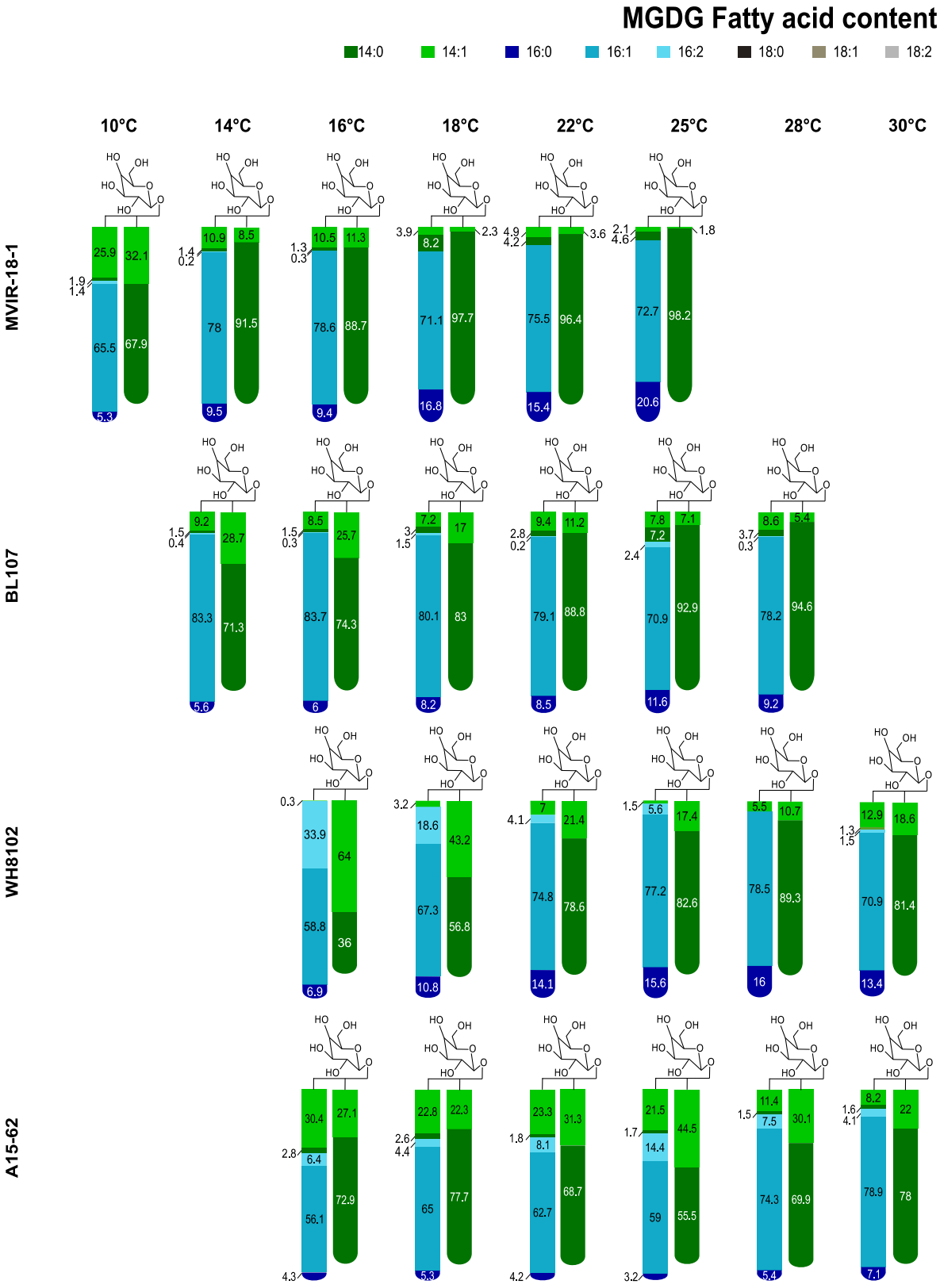


Figure 74| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. Les barres de gauche représentent les espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-1, les barres de droites celles estérifiées en position *sn*-2. La position *sn*-3 porte la tête polaire. Les mesures ont été répétées trois ou 4 fois.

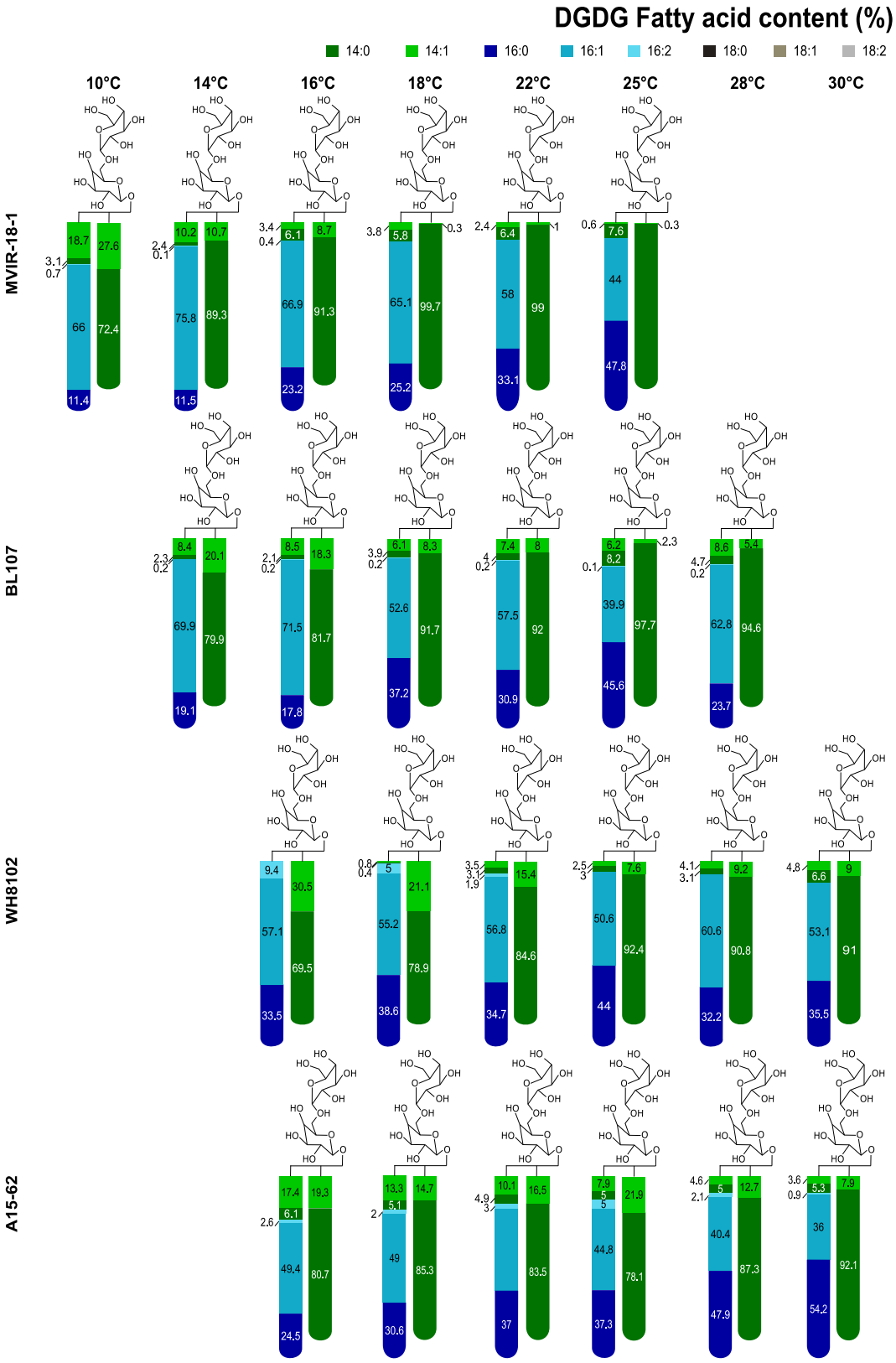


Figure 75| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. Les barres de gauche représentent les espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-1, les barres de droites celles estérifiées en position *sn*-2. La position *sn*-3 porte la tête polaire. Les mesures ont été répétées trois ou 4 fois.

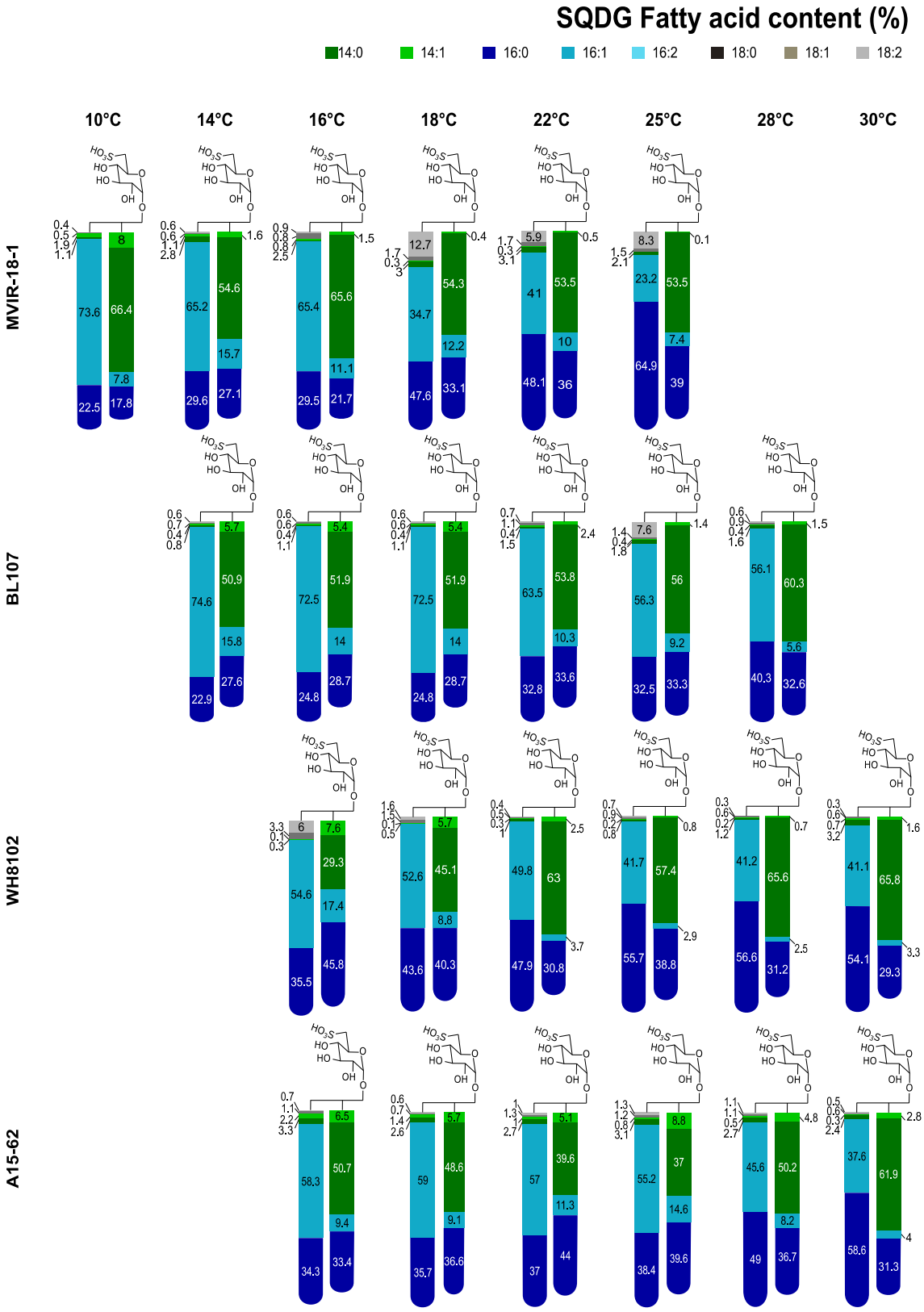


Figure 76| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. Les barres de gauche représentent les espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-1, les barres de droites celles estérifiées en position *sn*-2. La position *sn*-3 porte la tête polaire. Les mesures ont été répétées trois ou 4 fois.

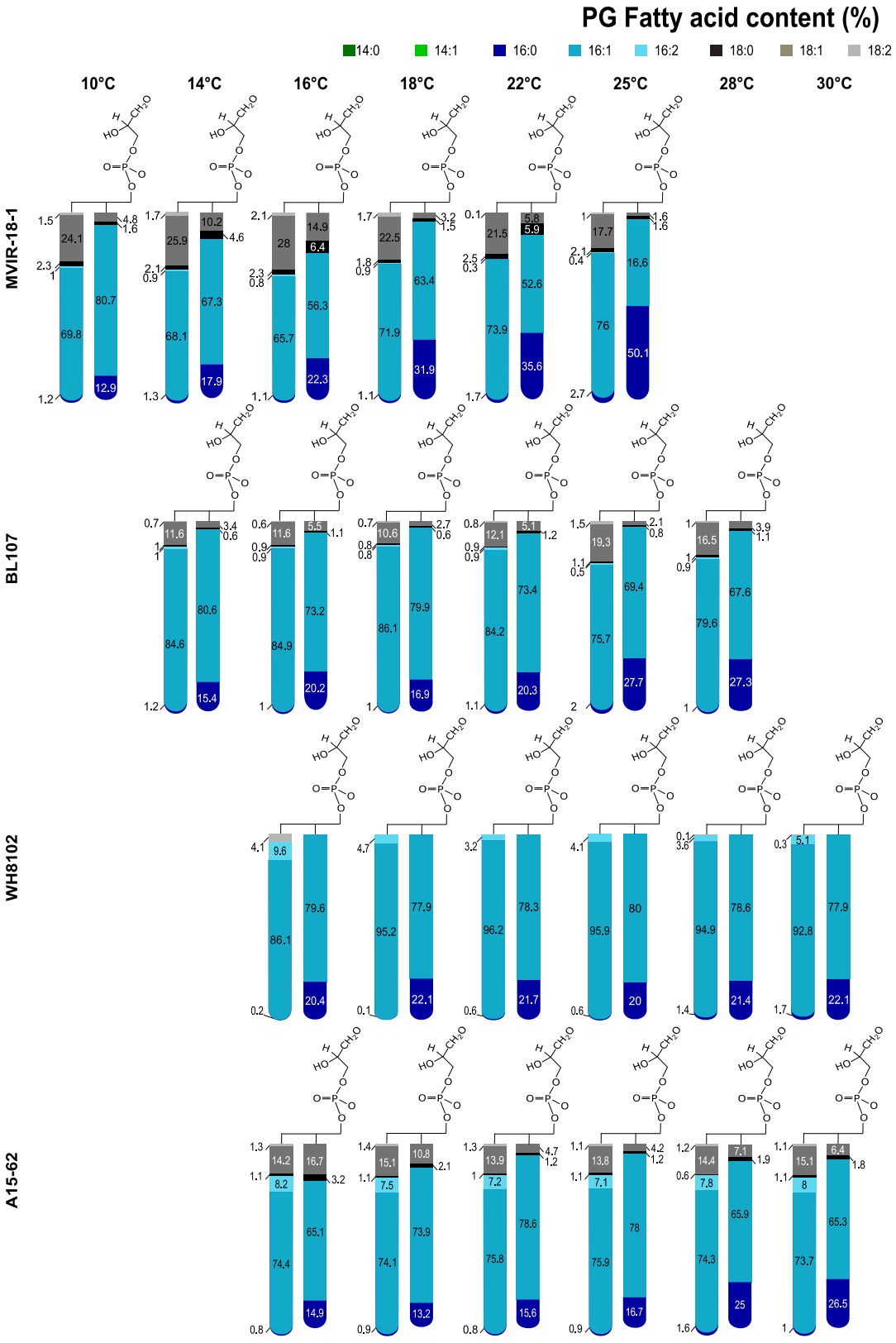


Figure 77| Variation du contenu relatif (%) des différentes espèces d'acides gras estérifiées sur les deux positions du glycérol (*sn*-1 et *sn*-2) du phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1, BL107, WH8102 et A15-62 acclimatées sur une gamme de températures. Les barres de gauche représentent les espèces d'acides gras estérifiées en position *sn*-1, les barres de droites celles estérifiées en position *sn*-2. La position *sn*-3 porte la tête polaire. Les mesures ont été répétées trois ou 4 fois.

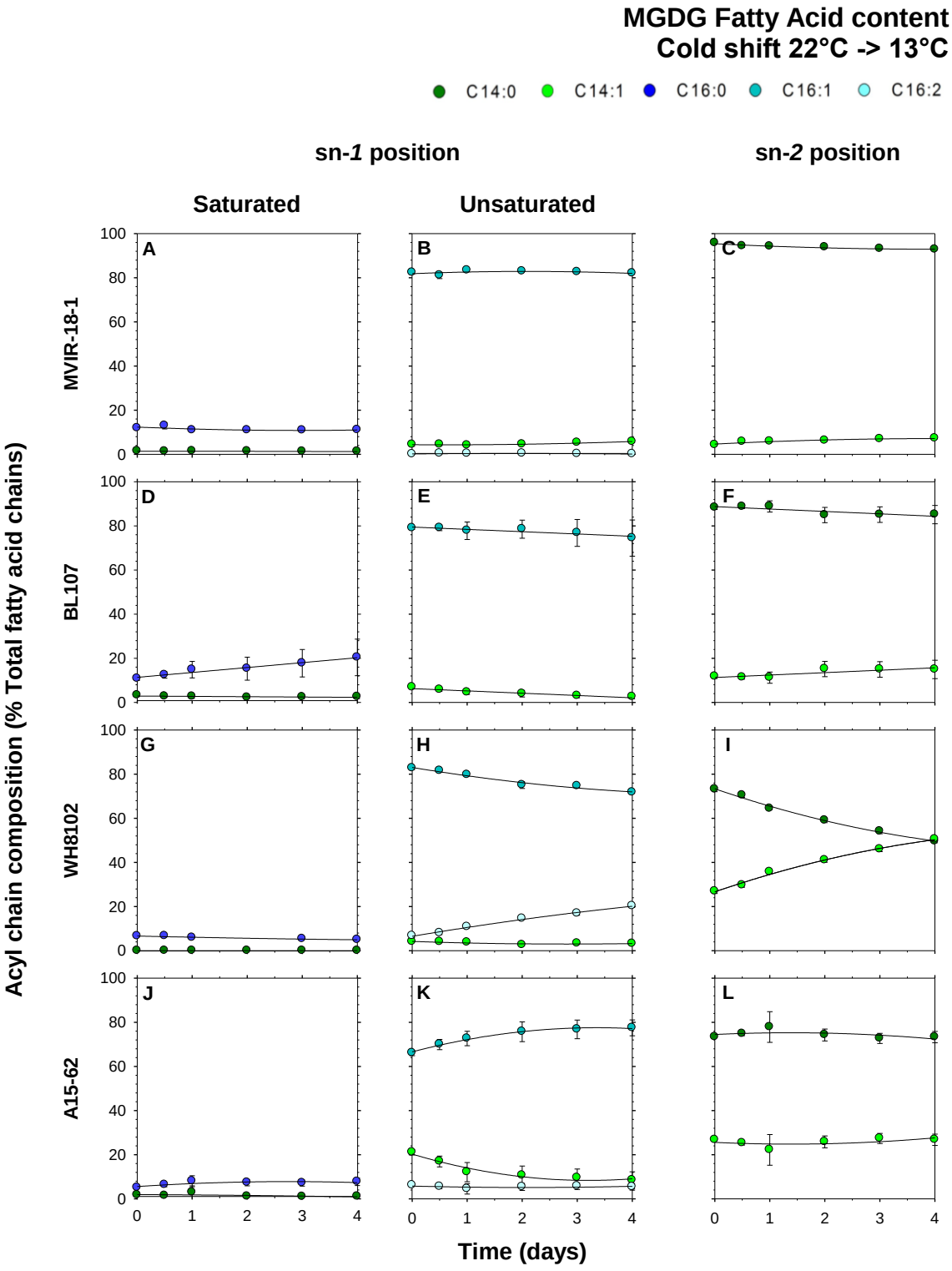


Figure 78| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

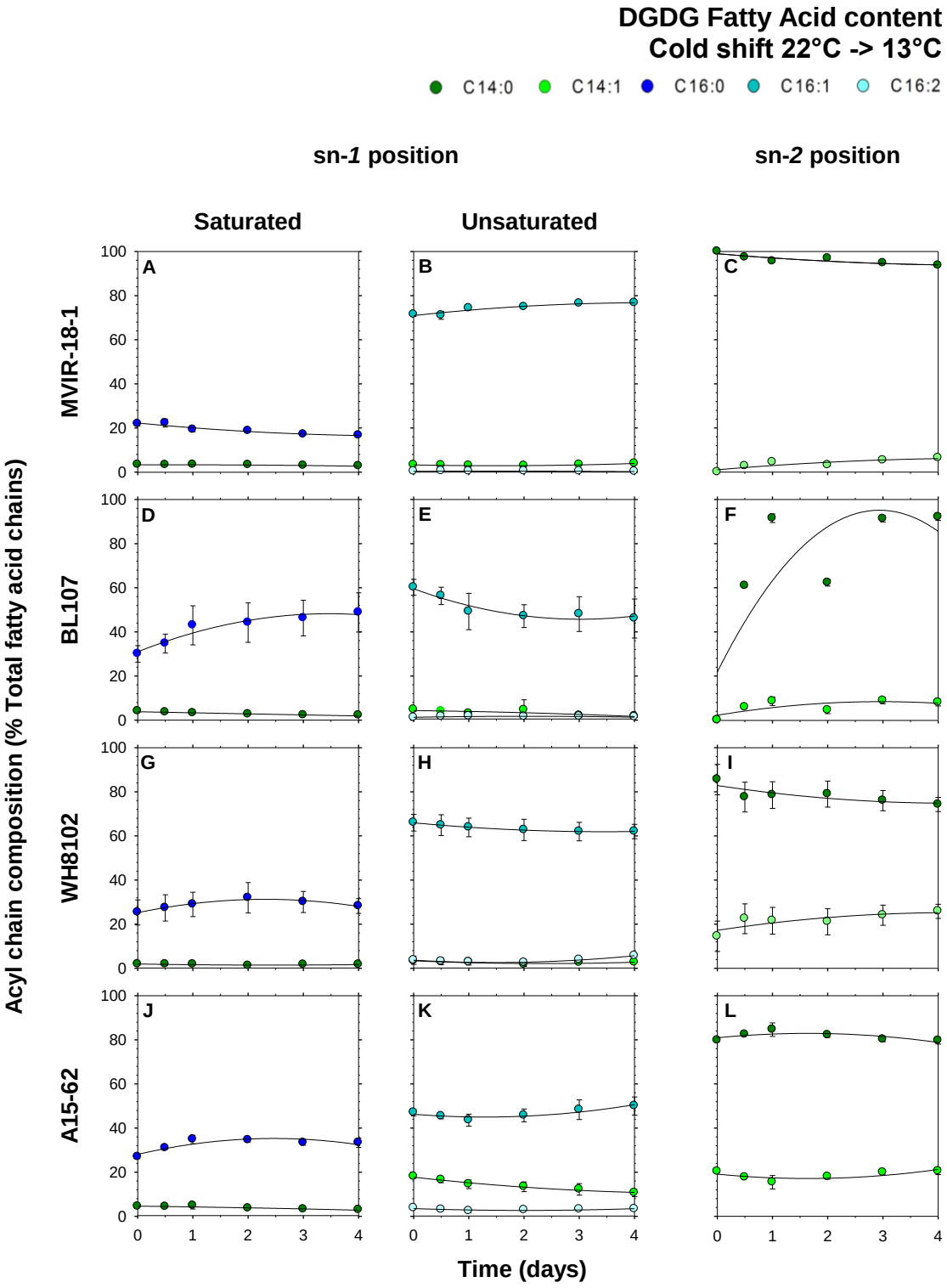


Figure 79| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

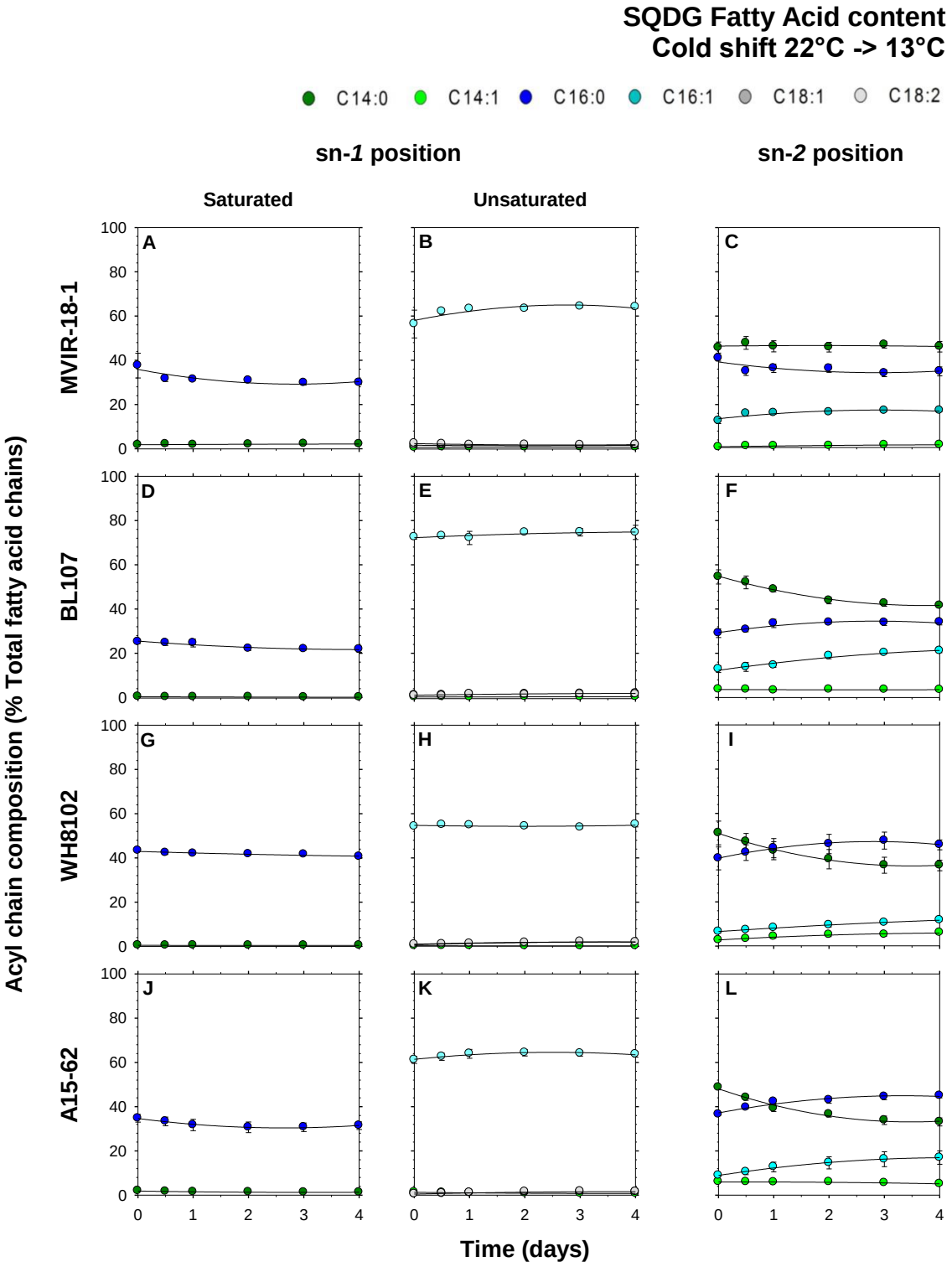


Figure 80| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

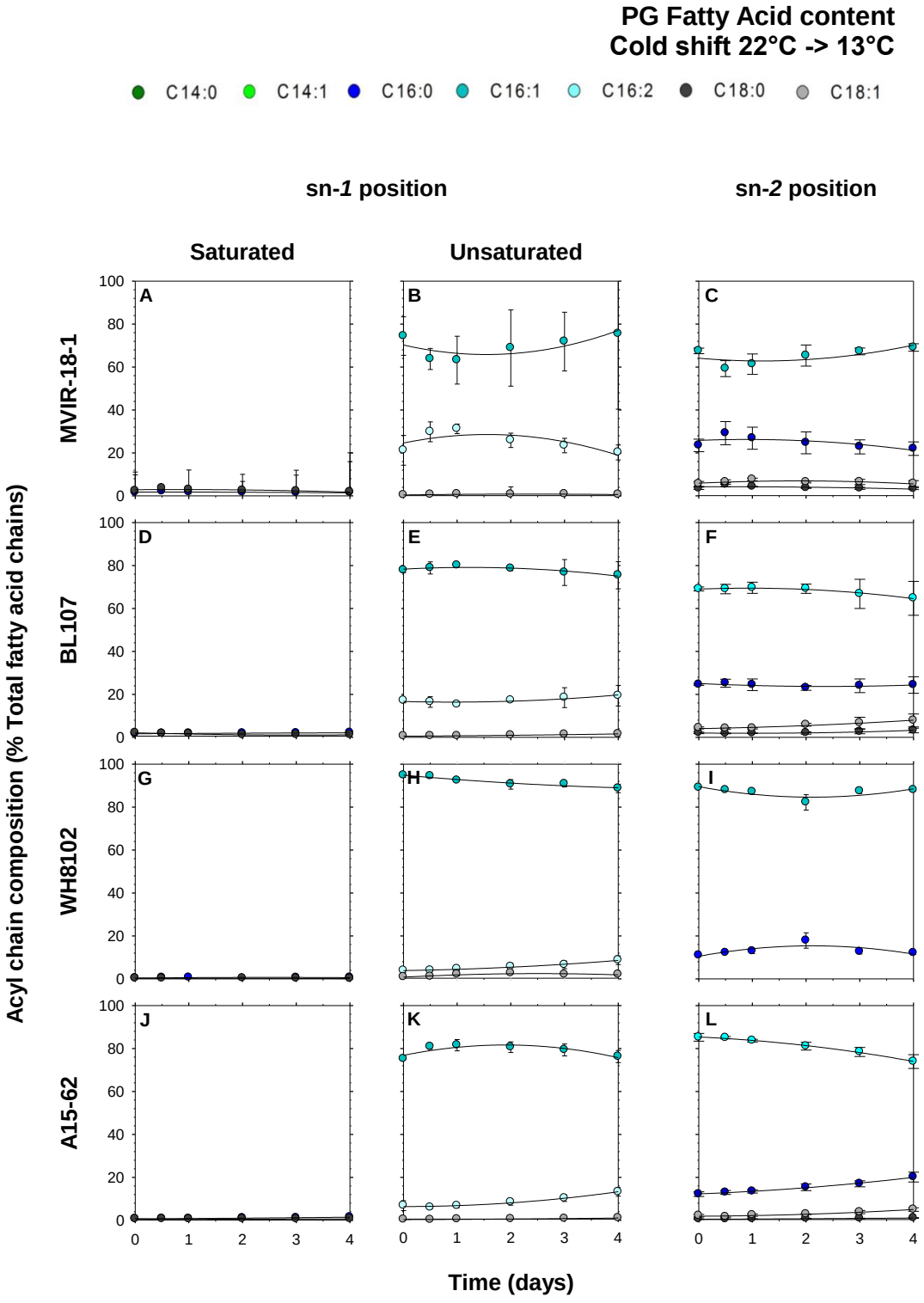


Figure 81| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), WH8102 (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift froid de température de 22°C à 13°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

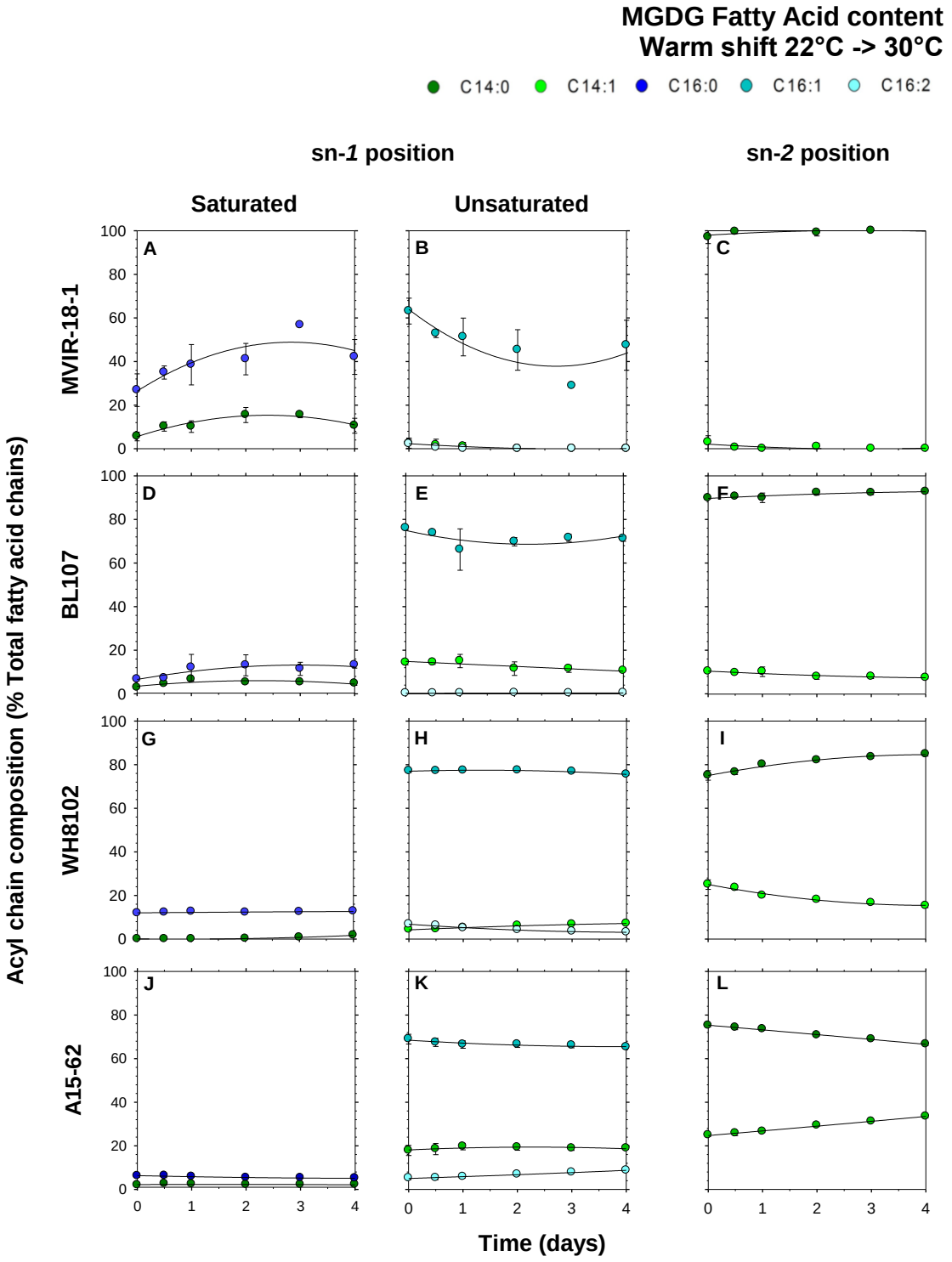


Figure 82| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

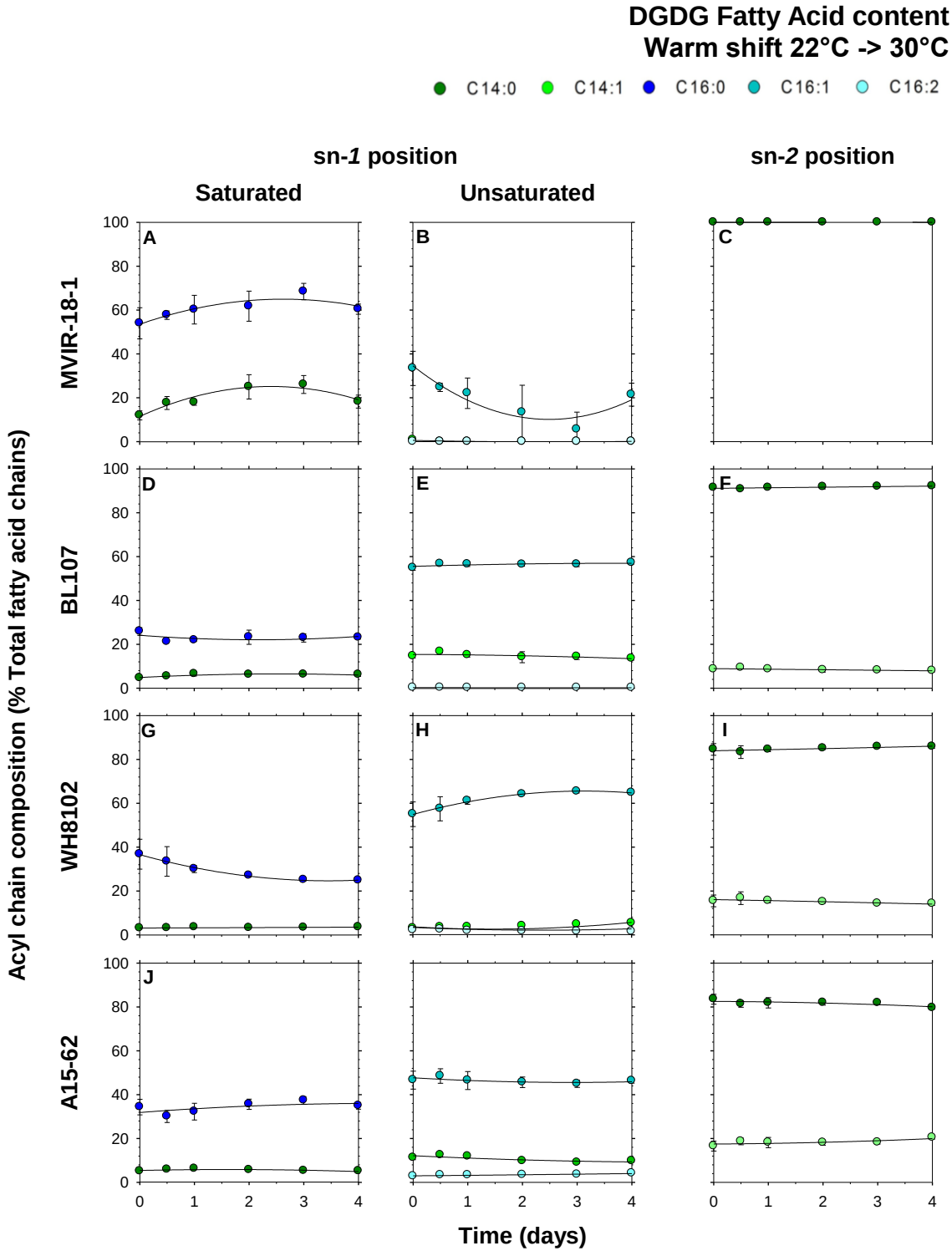


Figure 83| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le digalactosyldiacylglycérol (DGDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

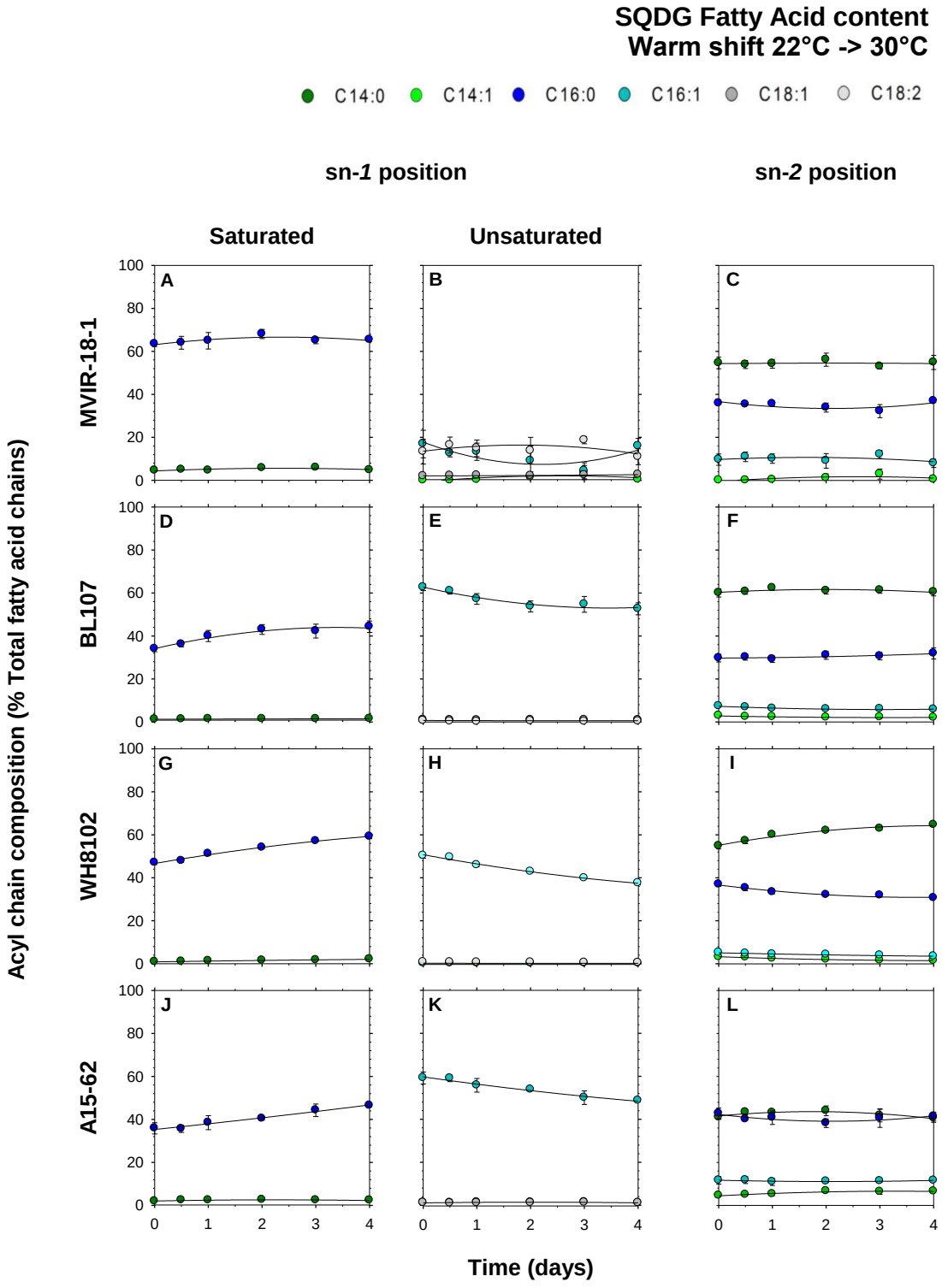


Figure 84| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

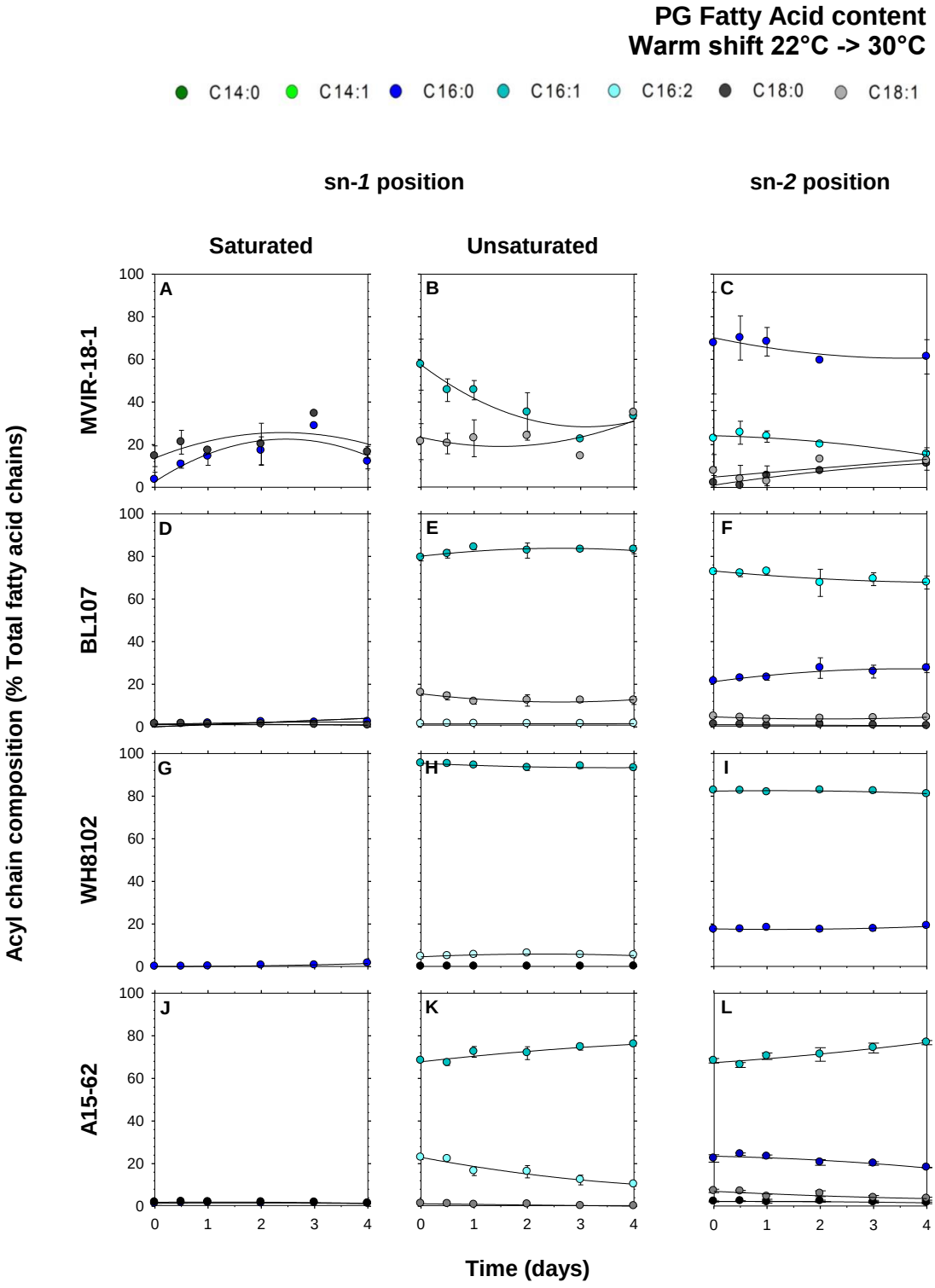


Figure 85| Variations relatives (%) des proportions de chaînes d'acides gras estérifiées à la position *sn*-1 (panel de gauche) et *sn*-2 (panel de droite) pour le phosphatidylglycérol (PG) pour les quatre souches de *Synechococcus* MVIR-18-1 (A, B, C), BL107 (D, E, F), (G, H, I) et A15-62 (J, K, L) en réponse à un shift chaud de température de 22°C à 30°C. Les mesures ont été répétées trois fois.

Discussion

Capacités de croissance des thermotypes de *Synechococcus* marins

Dans cette étude nous avons comparé la thermophysiologie de souches de *Synechococcus* marins isolées dans différentes niches thermiques : la souche subpolaire MVIR-18-1, du clade I, isolée entre les Mers du Nord et de Norvège dans des eaux à 10,4 ± 0,3°C, la souche tropicale A15-62, du clade II, isolée au large de la Mauritanie (23,7 ± 0,4°C), la souche tempérée chaude WH8102, du clade III, isolée en mer des Caraïbes (27,1 ± 0,1°C), et la souche tempérée froide BL107, du clade IV, isolée en mer Méditerranée occidentale (17,9 ± 0,3°C). La comparaison des *preferenda* thermiques de ces organismes est globalement en accord avec les caractéristiques thermiques des environnements desquels ils ont été isolés. En effet, les souches MVIR-18-1 et BL107 ont présenté des gammes de température de croissance décalées vers le froid en comparaison des souches WH8102 et A15-62, isolées à dans des niches thermiques plus chaudes, de latitude plus basses. La souche subpolaire MVIR-18-1, dont la température minimale de croissance n'a pas pu été déterminée, semble clairement la plus adaptée aux environnements froids.

Les différences entre souches ne sont toutefois globalement pas extrêmement marquées, surtout en terme de température optimale, comparés à une autre étude de thermophysiologie de 2014 où Pittera et collaborateurs ont mis en évidence une différence d'une dizaine de degrés pour ce paramètre entre les souches de hautes et de basses latitudes (Pittera *et al.* 2014), notamment entre la souche MVIR-18-1 et une souche du clade II isolée en Mer des Caraïbes : *Synechococcus* sp. M16.1. Ces différences entre les deux études sont très probablement liées à l'intensité lumineuse de croissance, qui est quatre fois plus élevée dans l'étude de Pittera *et al.* (2014). En effet, plusieurs travaux suggèrent qu'il faut considérer que la croissance des microorganismes photosynthétiques dépend fortement de l'interaction entre lumière et température, plutôt que chacun de ces paramètres pris séparément, comme montré par exemple chez d'autres cyanobactéries (Miśkiewicz *et al.* 2000). Ainsi, une étude récente suggère qu'une limitation en lumière peut réduire la température optimale de croissance de beaucoup de souches phytoplanctoniques d'environ 5°C (Edwards *et al.* 2016). Dans ce contexte, il serait intéressant de développer une étude sur les variations des capacités d'utilisation de la lumière par les écotypes de température de *Synechococcus* sous différentes températures. La comparaison de nos résultats avec l'étude de Pittera *et al*. (2014) suggère que la limitation en lumière semble surtout empêcher les écotypes adaptés aux environnements chauds de déployer une forte croissance à des températures supérieures à 30°C, alors que la croissance des écotypes adaptés aux environnements froids est similaire sous 20 et 80 µmol photons m^{-2} s^{-1} (Figure 42).

Enfin, il faut noter que les *Synechococcus* des clades I et IV ne sont pas des organismes psychrophiles, si on compare leur *prefrenda* thermiques à certains organismes phytoplanctoniques qui montrent une véritable spécialisation dans les environnements froids/polaires, avec une température optimale de croissance inférieure à 15°C et maximale ne dépassant pas les 20°C (Vincent 2000 ; Lovejoy *et al.* 2007 ; Boyd *et al.* 2013). La souche *Synechococcus* MVIR-18-1 est plutôt considérée comme psychrotolérante (Tang *et al.* 1997 ; Pittera *et al.* 2014).

Capacités photosynthétiques et température

Les quatre souches étudiées ont maintenu un rendement quantique du PSII relativement élevé pour toutes les températures de croissance, généralement supérieur à 0,5, avec de légères diminutions dans les températures froides pour les souches chaude et tropicale (clade II et III) et dans les températures chaudes pour les souches subpolaire et froide (Clade I et IV), probablement à cause de phénomènes de photoinhibition et/ou de NPQ (Pittera *et al.* 2014). Ce maintien des capacités photosynthétiques est en partie possible grâce à un remodelage de l'appareil photosynthétique en réponse à la température, pour réguler l'utilisation de la lumière. Nos résultats montrent en effet que les quatre souches ont modifié les proportions pigmentaires dans les thylacoïdes en réponse à la température de croissance. Nous avons tout d'abord observé une augmentation du rapport β-carotène : Chl *a* à partir de 18°C, beaucoup plus prononcé pour les souches adaptées aux environnements chauds, WH8102 et A15-62. De telles variations peuvent trouver leur origine dans des modifications du rapport PSII : PSI. En effet, chez les cyanobactéries typiques, les deux complexes lient la majorité des molécules de chl *a* et de β-carotène, mais dans des proportions très différentes : le rapport β-carotène:Chl *a* est de 0,05 pour le PSI et de 0,31 pour le PSII (W. Xu and Wang 2017; Umena et al. 2011). Nos résultats suggèrent par conséquent une augmentation du rapport des PS en faveur du PSII. De telles variations, qui doivent encore être vérifiées par des mesures plus directes du contenu cellulaire en PS, peuvent permettre d'ajuster le rapport de production ATP : NADPH par la phase claire de la photosynthèse, un processus probablement nécessaire aux souches adaptées aux environnements chauds pour croitre à des températures élevées. Cependant, des molécules de chl *a* et de β-carotène ont aussi été récemment découvertes sur d'autres protéines : les HLIPs. Ces petites protéines, ancêtres des antennes photosynthétiques des plantes, sont notamment impliquées dans la régulation de la synthèse de l'appareil photosynthétique et de l'utilisation de la lumière (Dolganov *et al.* 1995 ; Komenda and Sobotka 2016). Les deux protéines caractérisées chez *Synechocystis* sp. PCC 6803, HliC et HliD, montrent une activité température-dépendante et des rapports β-carotène : Chl *a* de 0,33 et 0,5, respectivement (Staleva *et al.* 2015 ; Shukla *et al.* 2018). Bien que ces protéines n'aient jamais été caractérisées chez les *Synechococcus* marins, leur génome contient un grand nombre de

gènes *hli*, qui codent probablement pour des protéines similairement pigmentées. Nos résultats suggèrent donc que ces protéines pourraient être impliquées dans l'acclimatation à la température chez les *Synechococcus* marins.

Le rapport zéaxanthine : chl *a* augmente chez toutes les souches en réponse à de basses températures de croissance. De plus, le rapport est globalement plus haut pour les souches adaptées aux environnements froids, MVIR-18-1 et BL107. Ces différences sont très probablement en partie dues à une diminution du contenu cellulaire en chl *a*, qui constitue une réponse classique aux températures froides permettant de réguler l'utilisation de la lumière en conditions de croissance lente. Cependant, ces variations sont probablement aussi dues à une augmentation du contenu cellulaire en zéaxanthine *via* l'activation de sa voie de biosynthèse. Bien que la fonction et la localisation précise de la zéaxanthine n'aient jamais été clairement déterminées, il est probable que cette augmentation ait un rôle dans des processus de photoprotection de l'appareil photosynthétique (Bidigare *et al.* 1989 ; Kusama *et al.* 2014). La zéaxanthine permettrait alors de dissiper la lumière non utilisable en conditions de croissance ralentie par les basses températures, un processus qui serait plus marqué chez les écotypes de basse température. Il est aussi à noter qu'il est bien connu que l'intégration de xanthophylles polaires dans les membranes biologiques peut considérablement affecter les propriétés physiques (pour une revue du sujet, voir Popova & Andreeva 2013). Si la zéaxanthine est sous forme libre dans les thylacoïdes, ce qui reste à montrer, son induction à basse température provoquerait une diminution supplémentaire de la fluidité membranaire, qui devrait alors être compensée par des variations significatives du niveau d'insaturation des membranes.

Composition générale des membranes de *Synechococcus* marins

Les thylacoïdes sont les membranes majoritaires chez les cyanobactéries et la composition membranaire globale de la cellule est donc très proche de la composition des thylacoïdes (Isamu Sakurai et al. 2006). L'ajustement de la fluidité des membranes thylacoïdiennes est primordial pour le bon fonctionnement des protéines qui y sont insérées, notamment les complexes photosynthétiques. Largement influencée par la température, il est essentiel pour les cellules d'être capable d'ajuster la fluidité des membranes par différents mécanismes, dont la variation de la longueur des chaînes d'acides gras et leur degré d'insaturation.

Ce travail constitue la première étude qui expose et compare la composition et la structure des lipides membranaires de façon précise chez plusieurs souches de *Synechococcus* marins. Les compositions en espèces d'acides gras, très riches en C14 et C16 avec au maximum 2 insaturations sont en accord avec les quelques études existantes sur les picocyanobactéries marines (Meritt *et*

al. 1991 ; Biller *et al.* 2014 ; Pittera *et al.* 2018). En moyenne 2 carbones plus courts que chez les cyanobactéries d'eau douce (Los and Mironov 2015), nos résultats suggèrent que les membranes de picocyanobactéries marines sont plus fines, et donc probablement plus fluides, que chez les souches d'eau douce. Les espèces d'acides gras estérifiés sur la position *sn*-1 des galactolipides sont majoritairement du C16 et sur le *sn*-2, uniquement du C14. Ceci semble analogue aux lipides de cyanobactéries d'eau douce qui présentent aussi une chaine longue en *sn*-1 (C18) et une chaine courte en *sn*-2 (C16 ; Murata and Wada 1995), et suggère que ce trait est essentiel à la stabilité de la bicouche lipidique chez ces organismes. En ce qui concerne le SQDG, il montre des différences de composition en acides gras par rapport aux deux galactolipides, avec des chaines en *sn*-1 composées presque uniquement de C16, alors que la position *sn*-2 peut lier du C14 ou du C16. Le PG est quant à lui un lipide très différent, puisqu'il ne contient que du C16 aux deux positions. Plusieurs études utilisant des mutants de cyanobactéries d'eau douce ont montré que le PG est impliqué dans l'activité des PS (Sakurai *et al.* 2003 ; Bogos *et al.* 2010; Yamamoto 2016), avec notamment un rôle structural au niveau de la protéine D1 et de la quinone Q_B (Itoh *et al.* 2012 ; Mizusawa and Wada, 2012). Ceci est en accord avec les plus faibles quantités de PG détectées dans les membranes et le fait que sa structure ne change quasiment pas en fonction de la température.

De manière générale, ces résultats de composition en acides gras en fonction de la tête polaire sont tout à fait en accord avec ce qui a été trouvé chez la souche modèle WH7803 (Pittera *et al.* 2018) et confirme l'existence de différences nettes entre les cyanobactéries marines et les souches d'eau douce (Los and Mironov 2015). Avec l'étude de ces quatre souches marines supplémentaires à la souche WH7803, les données montrent ainsi clairement que les *Synechococcus* marins possèdent une structure et une composition des lipides membranaires qui leur est spécifique. Ceci bouscule quelques peu les dogmes sur les membranes cyanobactériennes, établis dans les années 90 sur quelques souches modèles d'eau douce, et élargit notre vision de la diversité fonctionnelle des cyanobactéries.

Thermorégulation des membranes chez les thermotypes de *Synechococcus* marins

La régulation de l'épaisseur des membranes un des mécanismes connus qui peut permettre d'ajuster la fluidité membranaire, par exemple dans le contexte de variations de température. Nos résultats et l'étude de Pittera *et al.* (2018) montrent en effet que trois souches, MVIR-18-1 et A15-62 et WH7803, sont capables d'augmenter d'un facteur ~5 le rapport C14:C16 des lipides les plus abondants en réponse à de basses températures de croissance. Ce processus, qui n'a pas été observé dans les expériences de variation rapide de la température et donc probablement basé sur la synthèse *de novo* de lipides à chaines acyl plus courtes, permettrait d'augmenter la fluidité

membranaire en conditions froides. Cependant, le fait que les souches tempérées chaude WH8102 et froide BL107 soient incapables de mettre en place cette réponse suggère que ce mécanisme n'est pas directement lié à la microdiversification en écotypes de température.

Un autre moyen de faire varier la fluidité des membranes, qui a été très étudié, est l'insertion de double-liaisons carbone-carbone dans les chaines d'acides gras par des enzymes lipide-désaturases (Wada and Murata 1990). Les résultats ont montré que toutes les souches déploient un panel de différentes désaturations des acides gras estérifiés sur le MGDG, le DGDG et le SQDG, similaires à la souche marine WH7803 (Pittera *et al.* 2018) mais différents des cyanobactéries d'eau douce (Murata and Wada 1995). Une des différences est que, par exemple, les *Synechococcus* marins peuvent désaturer le DGDG et pas le PG, alors que l'inverse est vrai pour les souches d'eau douce (Sato and Murata 1982). Aussi, les cyanobactéries d'eau douce peuvent présenter jusqu'à 4 insaturations sur certaines chaines acyl alors que le maximum d'insaturations que nous ayons détectées par chaine chez toutes les souches est 2.

Les souches MVIR-18-1 et BL107, qui appartiennent aux clades I et IV, caractéristiques des environnements froids, sont capables d'amples variations des niveaux de monoinsaturations. Ces dernières peuvent se situer à des endroits très variés : sur les chaines C14 et C16, sur des chaines fixées aux positions *sn*-1 et *sn*-2 des trois glycolipides membranaires. Les monoinsaturations étant les insaturations les plus efficaces pour augmenter la fluidité membranaire (Murata and Wada 1995), ces remarquables capacités d'insertion de doubles liaisons sont probablement une des clés de la tolérance de ces souches aux températures basses. Les souches A15-62 et WH8102, représentatives d'écotypes adaptés à des eaux plus chaudes, ont montré des capacités bien moindres à monodésaturer leurs acides gras. En revanche, nos résultats ont montré des niveaux de doubles insaturations plus élevés pour ces thermotypes chauds que pour les souches MVIR-18-1 et BL107, chez qui le C16:2 est à peine détectable. Ces chaines acyl doublement insaturées se situent spécifiquement en position *sn*-1 des galactolipides, et peuvent représenter de l'ordre de 5 à 34% des chaines à cette position. C'est la première fois que de telles valeurs d'acides gras polyinsaturés sont reportées chez les *Synechococcus* marins. Pittera et collaborateurs ont en effet observé des valeurs de C16:2 sur le *sn*-1 des galactolipides en réponses au froid jusqu'à 3,5% (Pittera *et al.* 2018). La souche WH8102, en particulier, est capable de fortes inductions d'activités enzymatiques insérant des doubles désaturations quand elle soumise à des températures inférieures à 20°C. Ainsi, les écotypes de niches thermiques chaudes semblent privilégier les processus de double désaturation pour réguler les changements de fluidité membranaire induits par les variations de température.

Fonction des lipide-désaturases chez les thermotypes de *Synechococcus* marins

L'inspection des génomes des quatre souches étudiées dans ce travail montre qu'elles présentent des équipements en enzymes lipide-désaturases différents (Tableau 10, Pittera *et al.* 2018). Nos résultats montrent que les monoinsaturations sont les insaturations les plus fréquentes chez toutes les souches de *Synechococcus* marins étudiées. Ceci concorde avec la présence chez toutes les souches de la désaturase Δ9 DesC3, dont le gène fait donc partie du *core* génome. La souche A15-62, qui ne possède que cette monodésaturase, présente des monoinsaturations sur des chaines C16 et C14 fixées sur les deux positions *sn* des trois glycolipides. Ceci suggère que DesC3 est une monodésaturase peu régiospécifique puisqu'elle peut travailler sur des sites très différents. Etant présente chez toutes les souches, nous proposons que cette enzyme est probablement impliquée dans le maintien d'un niveau « normal » d'insaturation, inhérent à toutes les membranes biologiques, et son activité n'est probablement pas spécifiquement induite par la température. Les souches adaptées aux environnements froids possèdent une désaturase Δ9 supplémentaire, codée par le gène *des*C4 (Pittera *et al.* 2018 ; Chi *et al.* 2008) et ces souches montrent en effet des capacités beaucoup plus importantes de monodésaturation, apparemment sur les mêmes sites que DesC3. Ces résultats de biochimie suggèrent donc que *des*C4, qui provient d'une récente duplication de gènes avec *des*C3 (Pittera *et al.* 2018), code pour une enzyme similaire à DesC3 et procure aux écotypes une amplification des capacités de monodésaturation. Même si cela reste à démontrer, il est probable que cette enzyme soit induite plus spécifiquement à basse température.

Tableau 10| Gènes de désaturases présents dans les génomes des quatre souches de *Synechococcus* marins MVIR-18-1 (bleu), A15-62 (rouge), WH8102 (orange) et B107 (vert) acclimatés de 10°C à 30°C (Pittera *et al.* 2018)

Souche	Clade	Gène de désaturases en Δ9		Gène de désaturases en Δ12	
		desC3	*desC4*	*desA2*	*desA3*
MVIR-18-1	I				
A15-62	II				
WH8102	III				
BL107	IV				

Les doubles insaturations n'ont été détectées en quantités significatives que chez les souches adaptées aux environnements chauds. Contrairement aux monoinsaturations, elles se situent de façon très spécifique sur les chaines à 16 carbones situées en position *sn*-1 des deux galactolipides, montrant que les lipide-désaturases impliquées sont régiospécifiques. La souche

A15-62, qui n'a que la désaturase Δ12 DesA2 pour ajouter une seconde insaturation sur un acide gras, présente des doubles insaturations sur les deux galactolipides. Ceci montre que DesA2 est capable d'agir sur ces deux sites. Le fait que le niveau de double insaturation est plus important sur le MGDG peut suggérer que la tête polaire du DGDG, d'encombrement stérique plus important, diminue l'affinité de l'enzyme pour les chaines C16:1 de ce lipide.

La souche WH8102 montre de fortes capacités d'induction du C16:2 sur la position *sn*-1 des galactolipides. La présence d'une seconde désaturase Δ12, DesA3, chez cette souche est probablement liée à ce processus. Si l'on compare A15-62 et WH8102, la présence supplémentaire de DesC3 semble liée à la synthèse de C16:2 à la fois sur le MGDG et le DGDG et il est difficile de conclure si DesC3 a un site d'action ciblé sur un des galactolipides ou si, comme DesC2, elle peut agir sur les deux lipides. Une façon de mieux comprendre le niveau de régiospécificité de DesC3 serait de pouvoir mesurer des inductions significatives de C16:2 chez les souches qui ne possèdent que cette désaturase Δ12, c'est-à-dire les souches des clades I et IV caractéristiques des environnements froids (Tableau 10). Cependant, nous n'avons détecté que quelques traces de C16:2 sur le *sn*-1 des galactolipides de ces souches (<1%), ce qui ne permet pas de conclure. Le rôle de DesC3 chez ces souches reste d'ailleurs encore énigmatique. Il est possible que nos conditions expérimentales n'aient pas permis d'observer l'induction claire de l'activité de cette enzyme chez MVIR-18-1 et BL107. En effet, ces processus sont très sensibles à la température et Pittera et collaborateurs ont montré chez la souche modèle WH7803 qu'un shift de 18°C n'avait pas le même impact sur les processus de désaturation qu'un shift de 13°C (Pittera *et al.* 2018). Par ailleurs, cette enzyme est peut-être aussi sensible à d'autres paramètres environnementaux, tels que l'intensité lumineuse, qui était modérée dans nos expériences.

Conclusions & perspectives



Station Biologique de Roscoff, vue prise du jardin

Mon travail de thèse a permis des avancées significatives dans la compréhension de l'importance du facteur température dans la diversification de la radiation des *Synechococcus* marins, et soulève de nouvelles hypothèses et pistes de recherche à explorer dans les années à venir.

Température et microdiversification des *Synechococcus* marins

Les études de la relation entre les *Synechococcus* marins et la température ont montré que ces organismes se sont microdiversifiés en plusieurs lignées ayant colonisé des niches thermiques distinctes : les clades I et IV habitent dans les zones côtières tempérées-froides à subpolaires alors que les clades II et III vivent dans des environnements en moyenne beaucoup plus chauds (Paulsen *et al.* 2016 ; Sohm *et al.* 2016 ; Ahlgren and Rocap 2012 ; Zwirglmaier *et al.* 2007 ; 2008 ; Farrant *et al.* 2016). Les études en laboratoire les plus récentes ont pu montrer que les *preferenda* thermiques de croissance des clades I et II étaient en accord avec leurs niches thermiques (Pittera *et al.* 2014), sous-entendant qu'il existe des adaptations physiologiques permettant à ces écotypes de température (thermotypes) d'être compétitifs dans leur niche respective. Mon travail de thèse a contribué à enrichir nos connaissances sur les capacités de croissance des différents thermotypes de *Synechococcus*. Au début de ma thèse, il n'existait des données de *preferenda* thermiques que sur pour les clades I et II (Pittera *et al.* 2014). En étudiant des souches de 4 clades différents, j'ai pu confirmer que les quatre clades dominants les océans (I, II, III et IV) ont effectivement des préférences thermiques différentes et correspondent donc à des thermotypes.

La radiation des *Synechococcus* marins est cependant beaucoup plus diversifiée. Il existe en effet une dizaine d'autres clades, pour lesquels les études de phylogéographie commencent à peine à dévoiler la distribution mondiale, mais pour lesquels aucune donnée de thermophysiologie n'existe. Un des cas intéressants est le clade CRD1 dont les représentants semblent abondants dans les vastes zones limitées en fer de l'océan, suggérant que cette lignée pourrait s'être physiologiquement spécialisée dans ce type d'environnements. De plus, ce clade est divisé en au moins trois sous-clades qui semblent habiter des niches thermiques différentes (Figure 39, page 64 ; Farrant et al. 2016).

Ainsi, Il existerait peut-être des sous-écotypes de température à l'intérieur du clade de CRD1, une situation qui rappelle la diversification des *Prochlorococcus* de surface en deux sous-écotypes de température (Johnson *et al.* 2006). Malheureusement, il y a encore peu de souches du clade CRD1 isolées en laboratoire et les études de thermophysiologie comparées sont donc pour l'instant limitées. Les futurs efforts d'isolement de souches et des physiologistes permettront de

développer les études de laboratoire et nos connaissances sur les possibles spécialisations physiologiques des nombreux autres clades de *Synechococcus* marins.

Co-évolution aux limites thermiques de distribution des *Synechococcus* marins

Même si les *Synechococcus* marins sont détectés de l'équateur aux cercles polaires, la majorité des clades sont présents dans les eaux chaudes, tropicales et intertropicales, notamment les clades II et III. Les clades I et IV sont les seuls à avoir colonisé les limites actuelles de la distribution des *Synechococcus* marins, à savoir les zones tempérées froides et subpolaires de la planète. De façon intéressante, ces deux lignées sont éloignées dans la radiation globale des *Synechococcus* (Figure 41 page 66, Dufresne *et al.* 2008). Ceci pourrait vouloir dire que la colonisation de cette niche écologique (et les spécialisations physiologiques associées) a eu lieu de façon indépendante (Sohm *et al.* 2016) avec comme conséquence une cohabitation résultant de phénomènes de co-évolution adaptative (Zwirglmaier *et al.* 2007, 2008 ; Sohm *et al.* 2016).

J'ai commencé au cours de ma thèse des travaux qui visent à comparer les capacités adaptatives au gradient latitudinal de température de 8 souches de *Synechococcus* marins des clades I et IV isolées le long du gradient latitudinal de température du système Manche-Mer du Nord durant la campagne océanographique MICROVIR (Figure 86).



Figure 86| Localisation des sites d'isolement des souches de *Synechococcus* des clades I et IV, à trois latitudes différentes en Manche-Mer du Nord. *Synechococcus* spp. ROS8604, MVIR-1-1, MICROVIR-6CR-3, MICROVIR-3CR-0, MVIR-1-1, MVIR-16-1, MVIR-16-2, MVIR-18-1. Données issues du site de la Collection de Cultures de Roscoff (http://roscoff-culture-collection.org/).

Les objectifs du projet sont tout d'abord d'évaluer les éventuelles différences dans les capacités différentielles de thermoacclimatation et la thermorégulation membranaire, puis

d'étudier les interactions entre la température et l'appareil photosynthétique. En effet, mes travaux sur les variations de contenu pigmentaire (Chapitre 2, paragraphe « *Preferenda* thermiques et activité photosynthétique ») et la comparaison de mes données de croissance obtenues sous lumière modérée avec de précédentes études (Pittera *et al.* 2014), montrent que l'intensité lumineuse et les capacités d'acclimatation à la température sont intimement liées. Ce projet permettra donc de mieux comprendre si des *Synechococcus* des clades I et IV isolés à des latitudes différentes régulent l'utilisation de la lumière de la même façon.

Une autre question intéressante à laquelle ce projet permettra d'apporter des éléments de réponse est celle de la diversité fonctionnelle intra-clade. Il est en effet probable qu'il existe au sein des clades d'environnements froids, une microdiversité fonctionnelle, qui permettrait des distributions différentielles d'organismes d'un même clade. Par exemple, les souches du clade I de la Manche semblent être moins résistantes au froid que celles de la mer de Norvège (Pittera *et al.* 2014). Nous ne savons pas si les souches du clade IV présentent aussi de tels phénomènes de différenciation fonctionnelle intra-clade. L'étude de ces souches, qui ont probablement mis au point durant l'Evolution différents degrés d'adaptation au froid, permettrait probablement de disséquer les traits adaptatifs qui ont permis la colonisation progressive des eaux tempérées froides et subpolaires.

Les données que j'ai acquises ne concernent aujourd'hui que la définition partielle des *preferenda* thermiques des 8 souches cultivées sous lumière moyenne (Annexe 8| Détail du projet METALIC). Les résultats, qui doivent encore être affinés, suggèrent qu'il n'y a que peu de différences dans les limites et les *optima* thermiques de croissance entre ces souches des clades I et IV. Les futurs résultats permettront de comprendre si ces dernières utilisent les mêmes mécanismes physiologiques pour arriver à ces capacités de croissance comparables. Les stratégies de thermoacclimatation membranaire seront étudiées. Des mesures de biophysique de la photosynthèse visant notamment à comprendre les mécanismes de photoprotection induits par les basses températures seront réalisées. Ce projet constitue ainsi une perspective de travail intéressante pour la compréhension de l'interaction de la lumière et de la température, dans le contexte de la spécialisation parallèle des clades I et IV aux limites de la distribution des *Synechococcus* marins.

La régulation des lipides membranaires : un des verrous physiologiques de la distribution latitudinale ?

La mise en évidence de spécialisations physiologiques dans différentes gammes de température chez les *Synechococcus* marins est relativement récente. De fait, on sait encore très peu de choses sur les mécanismes physiologiques qui confèrent leur compétitivité aux différents thermotypes dans leur niche écologique respective. Jusqu'à aujourd'hui, les rares études physiologiques ont mis en évidence des processus d'acclimatation et d'adaptation à la température liés plus ou moins directement aux performance de complexes photosynthétiques tels que, par exemple le phycobilisome, en fonction de la température et des thermotypes des clades I et II (Pittera *et al.* 2017 ; Varkey *et al.* 2016).

Dans cette thèse, j'ai exploré l'hypothèse que la régulation de la composition des membranes, un composant cellulaire hautement sensible à la température, est un processus déterminant dans la colonisation d'une niche thermique donnée et le fait d'y être compétitif. En effet, toutes les cellules, des bactéries aux métazoaires, sont délimitées par des membranes et la plupart en contiennent de grandes quantités. Chez les organismes photosynthétiques, la régulation des membranes thylacoïdiennes, au sein desquelles sont insérés les complexes photosynthétiques, est particulièrement importante pour le maintien de la croissance en réponse à des variations environnementales. Une grande partie de mon travail de thèse repose ainsi sur l'étude de la composition et de la structure des lipides membranaires et des mécanismes de thermorégulation associés chez plusieurs souches de picocyanobactéries marines adaptées à des niches thermiques différentes.

Mon travail a permis d'établir pour la première fois la structure et la composition des lipides membranaires de 4 cyanobactéries marines du genre *Synechococcus*. Après l'étude de la souche modèle WH7803 par Pittera *et al.* 2018, nous avons à présent une vue beaucoup plus générale des spécificités membranaires des *Synechococcus* marins. Parmi ces dernières, on peut notamment citer la richesse en C14 et en C16, qui implique que ces membranes sont environ deux carbones plus fine que chez les cyanobactéries d'eau douce et beaucoup d'autres organismes (Los and Mironov 2015). On peut évoquer plusieurs hypothèses de travail pour mieux comprendre cette caractéristique. La vie en milieu constamment salé est peut-être une contrainte pour maintenir une fluidité membranaire adéquate, et que des membranes fines permettent ainsi le maintien d'une forte fluidité dans un milieu très ionique. Ceci est supporté par les expériences de stress hyper osmotique qui montrent que plusieurs microorganismes y répondent en augmentant considérablement la fluidité de leurs membranes (Los and Murata 2004; Rodríguez-Vargas *et al.*

2007). Dans ce contexte, il serait par exemple intéressant, dans de futures recherches, d'étudier la régulation des membranes chez des *Synechococcus* représentatifs de l'écotype estuarien (Cluster 5.1, Clade VIII), en réponse à d'importantes variations de salinité. Enfin, la synthèse de membranes plus fines représente aussi un coût énergétique bien moindre que les membranes riches en C18. Dans un milieu aussi dilué que l'eau de mer, on peut penser que cette économie n'est pas sans importance en comparaison aux milieux souvent beaucoup plus riches où prolifèrent beaucoup de cyanobactéries d'eau douce.

Une autre spécificité des membranes de picocyanobactérie marine est le faible nombre d'insaturations, deux au maximum, par chaine d'acides gras. Chez les cyanobactéries d'eau douce, ce chiffre peut monter à quatre (Murata and Wada 1995). De façon intéressante, il a été montré que les souches appartenant à des clades estuariens/côtiers ont dans leur génome plus de gènes de désaturases que les souches purement marines (Pittera *et al.* 2018), permettant probablement d'insérer d'autres types d'insaturations dans les chaines d'acides gras. Une hypothèse à considérer pour expliquer ces observations est la différence de stabilité des facteurs environnementaux entre ces différentes niches écologiques. En effet, le milieu océanique est globalement plus stable que les milieux très côtiers et d'eau douce. Dans ces derniers, les changements en salinité, lumière et température se font généralement plus vite et demandent probablement des capacités accrues de désaturation des membranes.

Dans cette thèse, j'ai essayé de disséquer les mécanismes de thermorégulation des quatre souches de *Synechococcus* adaptées à des niches thermiques différentes. Certains de ces processus apparaissent encore une fois comme assez spécifiques des picocyanobactéries marines, comparé aux mécanismes qui ont été généralisés chez les cyanobactéries d'eau douce. Le mécanisme de régulation de l'épaisseur des membranes, qui a initialement été mis en évidence chez la souche marine modèle *Synechococcus* sp. WH7803, ne semble pas spécifique des différents thermotypes (Pittera *et al.* 2018). En revanche, mon étude montre qu'en réponse à des variations de température, les écotypes de température déploient des panels différents de désaturations des acides gras estérifiés sur le MGDG, le DGDG et le SQDG. Les thermotypes froids utilisent principalement les monoinsaturations au 9ème carbone qu'ils sont capables d'insérer activement sur quasiment tous les acides gras, indépendamment du glycolipide et de la position *sn*. Les thermotypes chauds ont des capacités de monodésaturation moindres et semblent privilégier les doubles insaturations, qu'ils insèrent spécifiquement au douzième carbone des chaines à 16 carbones qui sont fixées à la position *sn*-1 des deux galactolipides.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, ces différents comportements physiologiques sont en lien avec la présence dans les génomes de ces écotypes de température, de différents équipements en gènes codant pour quatre lipide-désaturases, *desC3*, *desC4*, *desA2* et *desA3*, dont j'ai étudié les spécificités et fonctions dans mon travail de lipidomique. Dans le cadre d'une collaboration avec Ulysse Guyet et Laurence Garczarek, une étude de métagénomique a été développée dans le but d'étudier la distribution de ces quatre gènes aux stations de l'expédition *circum* planétaire *Tara Oceans* 2009-2013 (Figure 87). Cette étude sera intégrée au manuscrit en cours de rédaction (Breton *et al.* in prep).

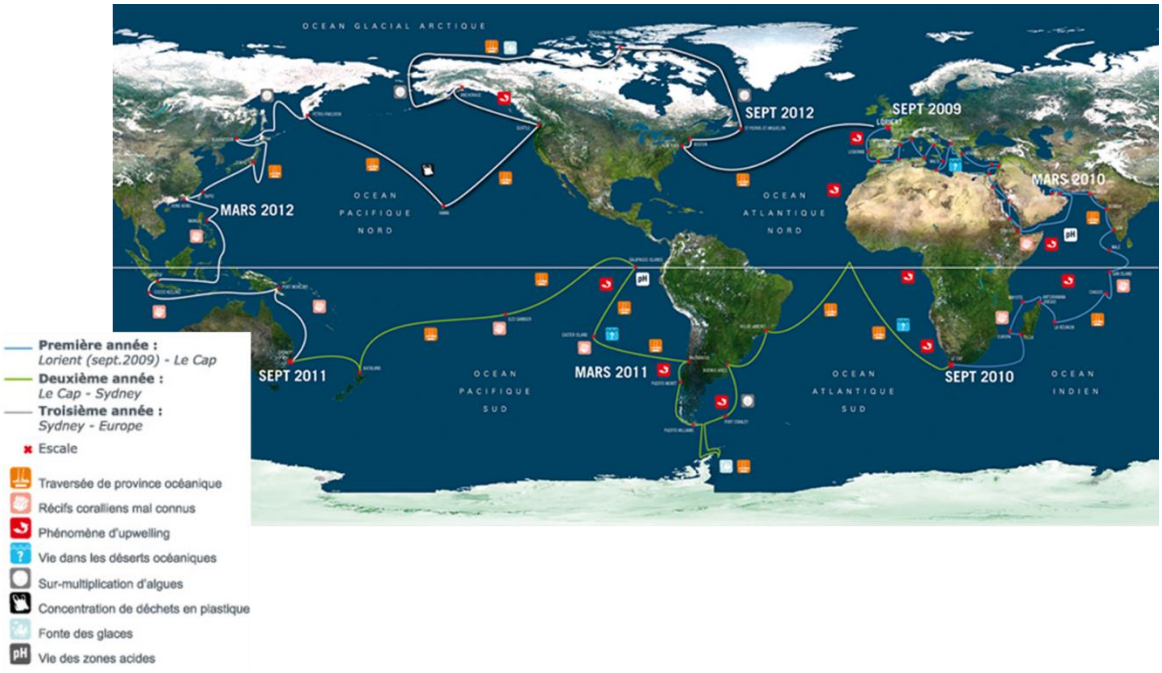


Figure 87| Stations de prélèvements durant la campagne *circum* planétaire TARA Ocean 2009-2013. Cette campagne océanographique a prélevé des échantillons de phytoplancton dans un grand nombre de provinces océanique différentes. A chaque station, les paramètres environnementaux ont été mesurés et l'ADN a été extrait et entièrement séquencé, permettant la reconstruction de métagénomes.

L'abondance relative de chaque gène de désaturase a été représentée en fonction de la température de l'eau au moment du prélèvement (Figure 88). Les résultats montrent que, comme attendu, le gène *core des*C3 a une distribution qui n'est pas dépendante de la température de l'eau de mer (Figure 88A). Au contraire, le gène de la désaturase complémentaire DesC4 est présent uniquement dans les eaux dont la température est inférieure à 20°C, en accord avec un rôle de *booster* de monodésaturation chez les thermotypes froids (Figure 88B, voir Chapitre 2 « Réponse du lipidome membranaire à la température »). La distribution du gène de la désaturase Δ12 DesA2 montre un patron tout à fait complémentaire de celle de DesC4, confirmant que cette enzyme est spécialisée dans les environnements chauds (Figure 88C). De façon intéressante, ces données

environnementales suggèrent que ces deux gènes ne sont pas exclusivement restreints aux génomes de thermotypes correspondants (clades I et IV pour DesC4 et clades II et III pour DesA2). Ceci est particulièrement visible pour DesC4 dont le gène est aussi présent dans les génomes des cellules du clade II et III qui habitent à la limite thermique de leur distribution, environ 17°C, une température qui correspond aux mesures de limites thermiques en laboratoire (Chapitre 2, paragraphe « *Preferenda* thermiques et activité photosynthétique »). Ceci suggère la possibilité de transferts horizontaux de ces gènes entre cellules de clades différents mais habitant dans des niches thermiques proches (Pittera *et al.* 2018).

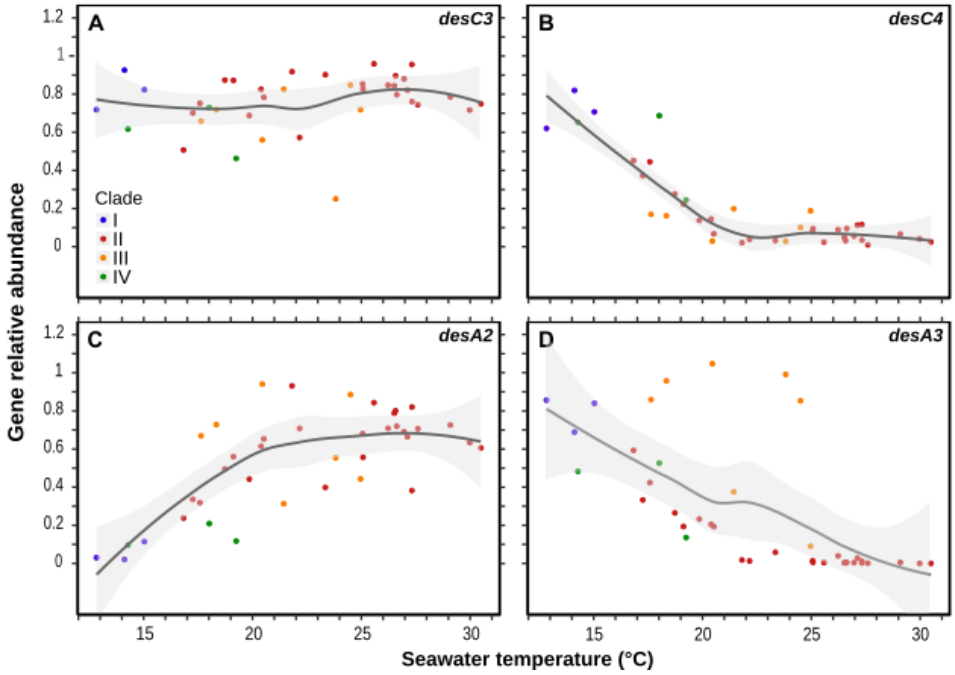


Figure 88| Abondance relative des gènes de désaturase en Δ9 *des*C3 (A) et *des*C4 (B) et en Δ12 *des*A2 (C) et *des*A3 (D), en fonction de la température de l'eau aux stations de prélèvement de l'expédition *TARA Océan* 2009-2013, pour les quatre clades I, II, III et IV correspondant aux thermotypes de *Synechococcus*. Clades I (bleu), II (rouge), III (orange), and IV (vert) (U. Guyet et L. Garczarek, comm. pers.). Pour chaque station, le nombre de copies du gène *petB*, présent en une seule copie dans chaque génome et permettant de déterminer l'affiliation à un clade, a été mesuré. Les abondances respectives des quatre gènes de désaturases ont ensuite été divisées par l'abondance de petB pour obtenir une abondance relative de chaque gène, par génome et par clade. L'abondance relative de chaque gène de désaturase a ensuite été représentée en fonction de la température de l'eau au moment du prélèvement.

De façon similaire à *des*C4, le gène de la désaturase DesA3 est principalement présent dans des eaux dont la température est inférieure à 20°C, en accord avec un rôle général de désaturase Δ12 chez beaucoup de *Synechococcus*. Toutefois, ce gène montre une forte et surprenante abondance dans les eaux de 17 à 25°C, spécifiquement chez les cellules du clade III (Figure 88D).

Ces dernières sont souvent présentes dans les niches thermiques tempérée-chaudes, c'est-à-dire des niches chaudes à température variable, telles que la mer Méditerranée (~13°C en hiver et jusqu'à 30°C en été). Au regard des résultats de lipidomique de la souche WH8102 (voir Chapitre 2 « Réponse du lipidome membranaire à la température »), il semble que les cellules du clade III ont la particularité d'utiliser les deux désaturases DesA pour considérablement augmenter leurs capacités de double désaturation, afin d'être compétitifs dans les niches thermiques tempérées-chaudes.

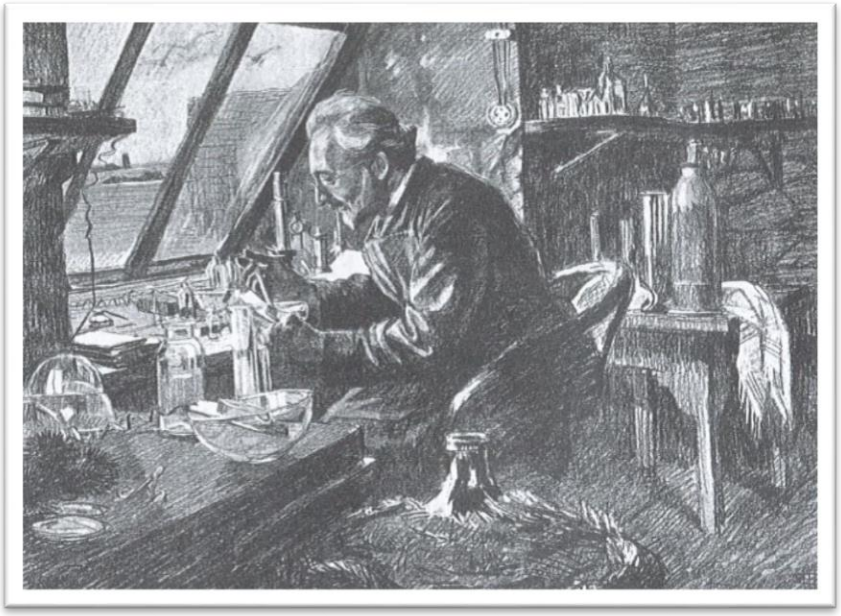
Afin de confirmer ces résultats, une étude d'enzymologie plus poussée est nécessaire. Ce type d'études, basées sur la construction de lignées mutantes et/ou sur la surexpression de protéines, permettraient d'étudier plus finement la régiospécificité de chaque lipide désaturase et d'évaluer leur thermotolérance. Toutefois, le fait que ces enzymes soient des protéines membranaires, généralement difficiles à surexprimer, et que les méthodes de transformation des cellules de *Synechococcus* marins soient encore difficiles à mettre en place rend la tâche ardue.

Notre étude permet ainsi, pour la première fois, de dévoiler des stratégies de thermoacclimatation des membranes mises en place durant la microdiversification fonctionnelle qui s'est opérée durant l'évolution de certains groupes de *Synechococcus* marins. Les traits d'adaptation tels que l'utilisation extensive des monoinsaturations au 9ème carbone, communs aux niches froides, illustre probablement un exemple de convergence évolutive chez les clades I et IV des *Synechococcus* marins. Les souches du clade II, habitant les environnements océaniques les plus chauds de la planète, ont généralement un contenu en gènes limité à deux désaturases. Ces faibles capacités de désaturation peuvent être aussi interprétées comme la conséquence de l'adaptation aux faibles variations de température des eaux équatoriales et subtropicales par rapport aux eaux situées à de plus hautes latitudes. Les souches du clade III habitant des eaux chaudes dont la température peut descendre en dessous de 15°C en hiver, ont adopté une stratégie physiologique particulière, apparemment basée sur les double-désaturations au 12ème carbone, qui permettent une régulation fine de la fluidité membranaire que les monoinsaturations (Murata and Wada 1995).

Notre étude ouvre les portes de l'étude du rôle adaptatif des désaturases de lipides chez les nombreux autres clades de *Synechococcus*. Par exemple, Pittera et collaborateurs ont montré que certaines souches du clade CRD1 habitant les zones pauvres en fer peuvent être présentes dans des environnements chauds alors que d'autres sont retrouvées dans des environnements bien plus froids (Pittera *et al.* 2014). De façon intéressante, les souches de ce clade peuvent présenter des équipements en gènes de désaturases très différents (Pittera *et al.* 2018), ce qui pose la question de la diversification fonctionnelle au sein d'un même clade et des potentiels transferts horizontaux de gènes sous-jacents.

Ces trois années de travail auront permis, au travers d'une approche générale de biologie des systèmes, de préciser la notion de thermotype chez les *Synechococcus* marins, et de caractériser un mécanisme adaptatif important associé à cette différenciation. Notre étude montre ainsi que la thermorégulation de la fluidité membranaire a probablement représenté un verrou physiologique pour la colonisation de différentes niches thermiques par les *Synechococcus* marins, qui a eu pour conséquence la mise en place de différentes stratégies physiologiques. Ce type d'études est tout à fait extrapolable à d'autres organismes phytoplanctoniques tels que les picoeucaryotes. Ces derniers, tels que les souches de l'espèce *Micromonas polaris*, dominent la fraction picoplanctonique des océans polaires et il serait très intéressant de comprendre les stratégies physiologiques mises place dans des environnements aussi froids et peu éclairés. La compréhension de ces processus adaptatifs représente un enjeu pour les futures recherches, en particulier dans le contexte actuel de réchauffement climatique.

Bibliographie



Portrait du Professeur Yves Delage dans son laboratoire,
par le peintre Mathurin Méheut

A

Abida, Heni, Lina-Juana Dolch, Coline Meï, Valeria Villanova, Melissa Conte, Maryse A. Block, Giovanni Finazzi, et al. 2015. "Membrane Glycerolipid Remodeling Triggered by Nitrogen and Phosphorus Starvation in *Phaeodactylum Tricornutum*." *Plant Physiology* 167 (1): 118–36. doi:10.1104/pp.114.252395.

Agawin, Nona S.R., Carlos M. Duarte, and Susana Agustí. 2000. "Nutrient and Temperature Control of the Contribution of Picoplankton to Phytoplankton Biomass and Production." *Limnology and Oceanography* 45 (3): 591–600. doi:10.4319/lo.2000.45.3.0591.

Ahlgren, Nathan A., Abigail Noble, Allison P. Patton, Kathryn Roache-Johnson, Laurel Jackson, Daniela Robinson, Cedar McKay, Lisa R. Moore, Mak A. Saito, and Gabrielle Rocap. 2014. "The Unique Trace Metal and Mixed Layer Conditions of the Costa Rica Upwelling Dome Support a Distinct and Dense Community of Synechococcus." *Limnology and Oceanography* 59 (6). Wiley-Blackwell: 2166–84. doi:10.4319/lo.2014.59.6.2166.

Ahlgren, Nathan A., and Gabrielle Rocap. 2012a. "Diversity and Distribution of Marine Synechococcus: Multiple Gene Phylogenies for Consensus Classification and Development of QPCR Assays for Sensitive Measurement of Clades in the Ocean." *Frontiers in Microbiology* 3 (JUN). Frontiers Media SA: 213. doi:10.3389/fmicb.2012.00213.

Ahlgren, Nathan A, and Gabrielle Rocap. 2012b. "Diversity and Distribution of Marine Synechococcus: Multiple Gene Phylogenies for Consensus Classification and Development of QPCR Assays for Sensitive Measurement of Clades in the Ocean." *Frontiers in Microbiology* 3. Frontiers Media SA: 213. doi:10.3389/fmicb.2012.00213.

Anbar, Ariel D, Yun Duan, Timothy W Lyons, Gail L Arnold, Brian Kendall, Jessica Garvin, and Roger Buick. 2007. "A Whiff of Oxygen Before The." *Science*. American Association for the Advancement of Science. doi:10.1126/science.1140325.

Apel, Klaus, and Heribert Hirt. 2004. "REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction." *Annual Review of Plant Biology* 55 (1): 373–99. doi:10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

Arnon, Daniel I., F. R. Whatley, and M. B. Allen. 1954. "Photosynthesis by Isolated Chloroplasts. II. Photosynthetic Phosphorylation, the Conversion of Light into Phosphate Bond Energy." *Journal of the American Chemical Society* 76 (24). American Chemical Society: 6324–29. doi:10.1021/ja01653a025.

Arteni, Ana A., Ghada Ajlani, and Egbert J. Boekema. 2009. "Structural Organisation of Phycobilisomes from Synechocystis Sp. Strain PCC6803 and Their Interaction with the Membrane." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1787 (4). Elsevier: 272–79. doi:10.1016/j.bbabio.2009.01.009.

Awai, Koichiro, Takatoshi Kakimoto, Chie Awai, Takakazu Kaneko, Yuki Nakamura, Ken-ichiro Takamiya, Hajime Wada, Hiroyuki Ohta, and T Kakimoto. 2006. "Comparative Genomic Analysis Revealed a Gene for Monoglucosyldiacylglycerol Synthase, an Enzyme for Photosynthetic Membrane Lipid Synthesis in Cyanobacteria 1." doi:10.1104/pp.106.082859.

B

Bao, Han, Matthew R Melnicki, and Cheryl A Kerfeld. 2017. "Structure and Functions of Orange Carotenoid Protein Homologs in Cyanobacteria." *Current Opinion in Plant Biology* 37 (June): 1–9. doi:10.1016/j.pbi.2017.03.010.

Bekker, A., H. D. Holland, P. L. Wang, D. Rumble, H. J. Stein, J. L. Hannah, L. L. Coetzee, and N. J. Beukes. 2004. "Dating the Rise of Atmospheric Oxygen." *Nature* 427 (6970). Nature Publishing Group: 117–20. doi:10.1038/nature02260.

Berla, Bertram M., Rajib Saha, Costas D. Maranas, and Himadri B. Pakrasi. 2015. "Cyanobacterial Alkanes Modulate Photosynthetic Cyclic Electron Flow to Assist Growth under Cold Stress." *Scientific Reports* 5 (1). Nature Publishing Group: 14894. doi:10.1038/srep14894.

Bernard, Olivier, and Barbara Rémond. 2012. "Validation of a Simple Model Accounting for Light and Temperature Effect on Microalgal Growth." *Bioresource Technology* 123 (November): 520–27. doi:10.1016/j.biortech.2012.07.022.

Bibby, T. S., I. Mary, J. Nield, F. Partensky, and J. Barber. 2003. "Low-Light-Adapted Prochlorococcus Species Possess Specific Antennae for Each Photosystem." *Nature* 424 (6952): 1051–54. doi:10.1038/nature01933.

Bidigare, Rr, O Schofield, and Bb Prezelin. 1989. "Influence of Zeaxanthin on Quantum Yield of Photosynthesis of Synechococcus Clone WH7803 (DC2)." *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 56. doi:10.3354/meps056177.

Biller, Steven J., Paul M. Berube, Debbie Lindell, and Sallie W. Chisholm. 2014. "Prochlorococcus: The Structure and Function of Collective Diversity." *Nature Reviews Microbiology* 13 (1). Nature Research: 13–27. doi:10.1038/nrmicro3378.

Bishop, Norman I. 1958. "The Influence of the Herbicide, DCMU, on the Oxygen-Evolving System of Photosynthesis." *BBA - Biochimica et Biophysica Acta* 27 (C): 205–6. doi:10.1016/0006-3002(58)90313-5.

Blank, C. E., and Patricia Sánchez-Baracaldo. 2010. "Timing of Morphological and Ecological Innovations in the Cyanobacteria - A Key to Understanding the Rise in Atmospheric Oxygen." *Geobiology* 8 (1). Wiley/Blackwell (10.1111): 1–23. doi:10.1111/j.1472-4669.2009.00220.x.

Bligh, E. G., and W. J. Dyer. 1959. "A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification." *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (8). NRC Research Press Ottawa, Canada : 911–17. doi:10.1139/o59-099.

Blot, Nicolas, Xian Jun Wu, Jean Claude Thomas, Juan Zhang, Laurence Garczarek, Stephan Böhm, Jun Ming Tu, et al. 2009. "Phycourobilinin Trichromatic Phycocyanin from Oceanic Cyanobacteria Is Formed Post-Translationally by a Phycoerythrobilin Lyase-Isomerase." *Journal of Biological Chemistry* 284 (14). American Society for Biochemistry and Molecular Biology: 9290–98. doi:10.1074/jbc.M809784200.

Bogos, Balázs, Bettina Ughy, Ildikó Domonkos, Hajnalka Laczkó-Dobos, Josef Komenda, Leyla Abasova, Krisztián Cser, et al. 2010. "Phosphatidylglycerol Depletion Affects Photosystem II Activity in Synechococcus Sp. PCC 7942 Cells." *Photosynthesis Research* 103 (1): 19–30. doi:10.1007/s11120-009-9497-0.

Bork, P., C. Bowler, C. De Vargas, G. Gorsky, E. Karsenti, and P. Wincker. 2015. "Tara Oceans Studies Plankton at Planetary Scale." *Science* 348 (6237). American Association for the Advancement of Science: 873. doi:10.1126/science.aac5605.

Boulay, Clémence, Leyla Abasova, Christophe Six, Imre Vass, and Diana Kirilovsky. 2008. "Occurrence and Function of the Orange Carotenoid Protein in Photoprotective Mechanisms in Various Cyanobacteria." doi:10.1016/j.bbabio.2008.07.002.

Boulay, Clémence, Adjélé Wilson, Sandrine D'haene, and Diana Kirilovsky. 2010. "Identification of a Protein Required for Recovery of Full Antenna Capacity in OCP-Related Photoprotective Mechanism in Cyanobacteria" 107 (25). doi:10.1073/pnas.1002912107.

Boyd, Philip W., Tatiana A. Rynearson, Evelyn A. Armstrong, Feixue Fu, Kendra Hayashi, Zhangxi Hu, David A. Hutchins, et al. 2013. "Marine Phytoplankton Temperature versus Growth Responses from Polar to Tropical Waters - Outcome of a Scientific Community-Wide Study." *PLoS ONE* 8 (5): 63091. doi:10.1371/journal.pone.0063091.

Buchan, Alison, Gary R. LeCleir, Christopher A. Gulvik, and José M. González. 2014. "Master Recyclers: Features and Functions of Bacteria Associated with Phytoplankton Blooms." *Nature Reviews. Microbiology* 12 (10): 686–98. doi:10.1038/nrmicro3326.

C

Cabello-Yeves, Pedro J., Jose M. Haro-Moreno, Ana Belen Martin-Cuadrado, Rohit Ghai, Antonio Picazo, Antonio Camacho, and Francisco Rodriguez-Valera. 2017. "Novel Synechococcus Genomes Reconstructed from Freshwater Reservoirs." *Frontiers in Microbiology* 8 (JUN). Frontiers Media SA: 1151. doi:10.3389/fmicb.2017.01151.

Campbell, D A, V Hurry, a K Clarke, P Gustafsson, and G Oquist. 1998. "Chlorophyll Fluorescence Analysis of Cyanobacterial Photosynthesis and Acclimation." *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR* 62 (3): 667–83. doi: .

Chi, Xiaoyuan, Qingli Yang, Fangqing Zhao, Song Qin, Yu Yang, Junjun Shen, and Hanzhi Lin. 2008. "Comparative Analysis of Fatty Acid Desaturases in Cyanobacterial Genomes." *Comparative and Functional Genomics* 2008. Hindawi Publishing Corporation. doi:10.1155/2008/284508.

Chi, Xiaoyuan, Xiaowen Zhang, Xiangyu Guan, Ling Ding, Youxun Li, Mingqing Wang, Hanzhi Lin, and Song Qin. 2008. "Fatty Acid Biosynthesis in Eukaryotic Photosynthetic Microalgae: Identification of a Microsomal Delta 12 Desaturase in Chlamydomonas Reinhardtii." *Journal of Microbiology* 46 (2). The Microbiological Society of Korea: 189–201. doi:10.1007/s12275-007-0223-3.

Chintalapati, Suresh, Jogadhenu Shyam Sunder Prakash, Pratima Gupta, Shuji Ohtani, Iwane Suzuki, Toshio Sakamoto, Norio Murata, and Sisinthy Shivaji. 2006. "A Novel Delta9 Acyl-Lipid Desaturase, DesC2, from Cyanobacteria Acts on Fatty Acids Esterified to the Sn-2 Position of Glycerolipids." *The Biochemical Journal* 398 (2). Portland Press Ltd: 207–14. doi:10.1042/BJ20060039.

Chisholm, Sallie W., Robert J. Olson, Erik R. Zettler, Ralf Goericke, John B. Waterbury, and Nicholas A. Welschmeyer. 1988. "A Novel Free-Living Prochlorophyte Abundant in the Oceanic Euphotic Zone." *Nature* 334 (6180). Nature Publishing Group: 340–43. doi:10.1038/334340a0.

Coates, R. Cameron, Sheila Podell, Anton Korobeynikov, Alla Lapidus, Pavel Pevzner, David H. Sherman, Eric E. Allen, Lena Gerwick, and William H. Gerwick. 2014. "Characterization of Cyanobacterial Hydrocarbon Composition and Distribution of Biosynthetic Pathways." Edited by Bing Xu. *PLoS ONE* 9 (1): e85140. doi:10.1371/journal.pone.0085140.

Coleman, Maureen L., and Sallie W. Chisholm. 2007. "Code and Context: Prochlorococcus as a Model for Cross-Scale Biology." *Trends in Microbiology* 15 (9): 398–407. doi:10.1016/j.tim.2007.07.001.

D

Dolganov, N. A., D. Bhaya, and A. R. Grossman. 1995. "Cyanobacterial Protein with Similarity to the Chlorophyll a/b Binding Proteins of Higher Plants: Evolution and Regulation." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (2). National Academy of Sciences: 636–40. doi:10.1073/pnas.92.2.636.

Domonkos, I., P. Malec, H. Laczko-Dobos, O. Sozer, K. Klodawska, H. Wada, K. Strzalka, and Z. Gombos. 2008. "Phosphatidylglycerol Depletion Induces an Increase in Myxoxanthophyll Biosynthetic Activity in Synechocystis PCC6803 Cells." *Plant and Cell Physiology* 50 (2): 374–82. doi:10.1093/pcp/pcn204.

Dufresne, Alexis, Laurence Garczarek, and Frédéric Partensky. 2005. "Accelerated Evolution Associated with Genome Reduction in a Free-Living Prokaryote." *Genome Biology* 6 (2). BioMed Central: R14. doi:10.1186/gb-2005-6-2-r14.

Dufresne, Alexis, Martin Ostrowski, David J. Scanlan, Laurence Garczarek, Sophie Mazard, Brian P. Palenik, Ian T. Paulsen, et al. 2008. "Unraveling the Genomic Mosaic of a Ubiquitous Genus of Marine Cyanobacteria." *Genome Biology* 9 (5). BioMed Central: R90. doi:10.1186/gb-2008-9-5-r90.

Dvořák, Petr, Aloisie Poulíčková, Petr Hašler, Mattia Belli, Dale A. Casamatta, and Alessio Papini. 2015. "Species Concepts and Speciation Factors in Cyanobacteria, with Connection to the Problems of Diversity and Classification." *Biodiversity and Conservation* 24 (4). Springer Netherlands: 739–57. doi:10.1007/s10531-015-0888-6.

E

Edwards, Kyle F., Mridul K. Thomas, Christopher A. Klausmeier, and Elena Litchman. 2016. "Phytoplankton Growth and the Interaction of Light and Temperature: A Synthesis at the Species and Community Level." *Limnology and Oceanography* 61 (4): 1232–44. doi:10.1002/lno.10282.

Ernst, Robert, Christer S. Ejsing, and Bruno Antonny. 2016. "Homeoviscous Adaptation and the Regulation of Membrane Lipids." *Journal of Molecular Biology* 428 (24). Academic Press: 4776–91. doi:10.1016/j.jmb.2016.08.013.

Everroad, Craig, Christophe Six, Frédéric Partensky, Jean Claude Thomas, Julia Holtzendorff, and A. Michelle Wood. 2006. "Biochemical Bases of Type IV Chromatic Adaptation in Marine Synechococcus Spp." *Journal of Bacteriology* 188 (9). American Society for Microbiology (ASM): 3345–56. doi:10.1128/JB.188.9.3345-3356.2006.

F

Farrant, Gregory K., Hugo Doré, Francisco M. Cornejo-Castillo, Frédéric Partensky, Morgane Ratin, Martin Ostrowski, Frances D. Pitt, et al. 2016. "Delineating Ecologically Significant Taxonomic Units from Global Patterns of Marine Picocyanobacteria." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (24). National Academy of Sciences: E3365–74. doi:10.1073/pnas.1524865113.

Field, Christopher B., Michael J. Behrenfeld, James T. Randerson, and Paul Falkowski. 1998. "Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components." *Science* 281 (5374): 237–40. doi:10.1126/science.281.5374.237.

Flombaum, P., J. L. Gallegos, R. A. Gordillo, J. Rincon, L. L. Zabala, N. Jiao, D. M. Karl, et al. 2013. "Present and Future Global Distributions of the Marine Cyanobacteria Prochlorococcus and Synechococcus." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (24): 9824–29. doi:10.1073/pnas.1307701110.

Fuller, Nicholas J., Dominique Marie, Frédéric Partensky, Daniel Vaulot, Anton F. Post, and David J. Scanlan. 2003. "Clade-Specific 16S Ribosomal DNA Oligonucleotides Reveal the Predominance of a Single Marine Synechococcus Clade throughout a Stratified Water Column in the Red Sea." *Applied and Environmental Microbiology* 69 (5). American Society for Microbiology (ASM): 2430–43. doi:10.1128/AEM.69.5.2430-2443.2003.

G

Gantt, Elisabeth. 1994. "Supramolecular Membrane Organization." In *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, 119–38. Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-011-0227-8_6.

Garczarek, Laurence, Alexis Dufresne, Sylvie Rousvoal, Nyree J. West, Sophie Mazard, Dominique Marie, Hervé Claustre, et al. 2007. "High Vertical and Low Horizontal Diversity of Prochlorococcus Ecotypes in the Mediterranean Sea in Summer." *FEMS Microbiology Ecology* 60 (2). Blackwell Publishing Ltd: 189–206. doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00297.x.

Garczarek, Laurence, Wolfgang R Hess, Julia Holtzendorff, G W van der Staay, and Frédéric Partensky. 2000. "Multiplication of Antenna Genes as a Major Adaptation to Low Light in a Marine Prokaryote." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 97. doi:10.1073/pnas.070040897.

Garczarek, Laurence, Frédéric Partensky, Horst Irlbacher, Julia Holtzendorff, Marcel Babin, Isabelle Mary, Jean Claude Thomas, and Wolfgang R. Hess. 2001. "Differential Expression of Antenna and Core Genes in Prochlorococcus PCC 9511 (Oxyphotobacteria) Grown under a Modulated Light-Dark Cycle." *Environmental Microbiology* 3 (3). Wiley/Blackwell (10.1111): 168–75. doi:10.1046/j.1462-2920.2001.00173.x.

Gardès-Albert, Monique, Dominique Bonnefont-rousselot, Zohreh Abedinzadeh, and Daniel Jore. 2003. "Espèces Réactives de l ' Oxygène Comment l ' Oxygène Peut-Il Devenir Toxique ?" *L'actualité Chimique*. http://www.helioxplongee.fr/wa_files/Radicaux_20Libres.pdf.

Garwin, J. L., A. L. Klages, and J. E. Cronan. 1980. "β-Ketoacyl-Acyl Carrier Protein Synthase II of Escherichia Coli. Evidence for Function in the Thermal Regulation of Fatty Acid Synthesis." *Journal of Biological Chemistry* 255 (8): 3263–65. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6988423

Genty, Bernard, Jean Marie Briantais, and Neil R. Baker. 1989. "The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence." *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 990 (1). Elsevier: 87–92. doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.

Glazer, A. N. 1989. "Light Guides. Directional Energy Transfer in a Photosynthetic Antenna." *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 264. doi:10.1016/S0030-3992(71)80039-7.

Glazer, Alexander N. 1994. "Phycobiliproteins - a Family of Valuable, Widely Used Fluorophores." *Journal of Applied Phycology* 6 (2). Kluwer Academic Publishers: 105–12. doi:10.1007/BF02186064.

Glémarec, Michel. 2007. *Qu'est-Ce Que La Biologie Marine? De La Biologie Marine à l'océanographie Biologique*. Vuibert. http://www.deboecksuperieur.com/ouvrage/9782711771950-quest-ce-que-la-biologie-marine.

Grébert, Théophile, Hugo Doré, Frédéric Partensky, Gregory K. Farrant, Emmanuel S. Boss, Marc Picheral, Lionel Guidi, et al. 2018. "Light Color Acclimation Is a Key Process in the Global Ocean Distribution of *Synechococcus Cyanobacteria*." *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201717069. doi:10.1073/pnas.1717069115.

Greenwood, D. R., and S. L. Wing. 1995. "Eocene Continental Climates and Latitudinal Temperature Gradients." *Geology* 23 (11). GeoScienceWorld: 1044–48. doi:10.1130/0091-7613(1995)023<1044:ECCALT>2.3.CO;2.

H

Heath, R. J., S. Jackowski, and C. O. Rock. 1994. "Guanosine Tetraphosphate Inhibition of Fatty Acid and Phospholipid Synthesis in Escherichia Coli Is Relieved by Overexpression of Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase (PlsB)." *Journal of Biological Chemistry* 269 (42): 26584–90. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7929384

Heath, R. J., and C. O. Rock. 1995. "Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (FabI) Plays a Determinant Role in Completing Cycles of Fatty Acid Elongation in Escherichia Coli." *Journal of Biological Chemistry* 270 (44): 26538–42. doi:10.1074/jbc.270.44.26538.

Heath, R., S. White, and C. Rock. 2002. "Inhibitors of Fatty Acid Synthesis as Antimicrobial Chemotherapeutics." *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (6): 695–703. doi:10.1007/s00253-001-0918-z.

Herdman, Michael, Richard .W. Castenholz, John B. Waterbury, and Rosmarie Rippka. 2001. "Form-Genus XIII. Synechococcus." In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, edited by Springer-Verlag New and York, Boone DR &, 508–12.

Herdman, Michael, Richard W. Castenholz, John B. Waterbury, and Rosmarie Rippka. 2015. "*Form-Synechococcus*." In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–7. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1002/9781118960608.gbm00422.

Holland, Heinrich D. 2018. "The Oxygenation of the Atmosphere and Oceans." Accessed September 5. doi:10.1098/rstb.2006.1838.

Honda, Daiske, Akira Yokota, and Junta Sugiyama. 1999. "Detection of Seven Major Evolutionary Lineages in Cyanobacteria Based on the 16S RRNA Gene Sequence Analysis with New Sequences of Five Marine Synechococcus Strains." *Journal of Molecular Evolution* 48 (6): 723–39. doi:10.1007/PL00006517.

Hopkins, William G., and Charles-Marie. Évrard. 2003. *Physiologie Végétale*. De Boeck. https://books.google.de/books?id=V80eV1H-UCoC&dq=transpuiration+coefficient+c4+c§+250&hl=fr&source=gbs_navlinks_s.

Huang, Sijun, Steven W. Wilhelm, H. Rodger Harvey, Karen Taylor, Nianzhi Jiao, and Feng Chen. 2012. "Novel Lineages of Prochlorococcus and Synechococcus in the Global Oceans." *ISME Journal* 6 (2). Nature Publishing Group: 285–97. doi:10.1038/ismej.2011.106.

Humily, Florian. 2013. "Étude Génomique , Métagénomique Et Physiologique De La Diversite Pigmentaire Chez Les Cyanobacteries Du Genre Synechococcus," no. Ed 129 (June). Université Pierre et Marie Curie - Paris VI: 1–341. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00851664.

Humily, Florian, Frédéric Partensky, Christophe Six, Gregory K. Farrant, Morgane Ratin, Dominique Marie, and Laurence Garczarek. 2013. "A Gene Island with Two Possible Configurations Is Involved in Chromatic Acclimation in Marine Synechococcus." Edited by Francisco Rodriguez-Valera. *PLoS ONE* 8 (12). Public Library of Science: e84459. doi:10.1371/journal.pone.0084459.

J

Johnson, Zackary I, Erik R Zinser, Allison Coe, Nathan P Mcnulty, E S Malcolm, Sallie W Chisholm, E Malcolm S Woodward, and Sallie W Chisholm. 2006. "Partitioning Among Prochlorococcus Ecotypes Along Environmental Gradients." *Science* 311 (March): 1737–40. doi:10.1126/science.1118052.

Jordan, Patrick, Petra Fromme, Horst Tobias Witt, Olaf Klukas, Wolfram Saenger, and Norbert Krauß. 2001. "Three-Dimensional Structure of Cyanobacterial Photosystem I at 2.5Å Resolution." *Nature* 411 (6840): 909–17. doi:10.1038/35082000.

Joshua, S. 2004. "Phycobilisome Diffusion Is Required for Light-State Transitions in Cyanobacteria." *Plant Physiology* 135 (4). American Society of Plant Biologists: 2112–19. doi:10.1104/pp.104.046110.

Jouhet, Juliette, Josselin Lupette, Olivier Clerc, Leonardo Magneschi, Mariette Bedhomme, Séverine Collin, Sylvaine Roy, Eric Maréchal, and Fabrice Rébeillé. 2017. "LC-MS/MS versus TLC plus GC Methods: Consistency of Glycerolipid and Fatty Acid Profiles in Microalgae and Higher Plant Cells and Effect of a Nitrogen Starvation." *PLoS ONE* 12 (8). doi:10.1371/journal.pone.0182423.

Jupin, Henri., and André. Lamant. 1999. *La Photosynthèse*. Dunod. https://books.google.fr/books/about/La_photosynthèse.html?id=jHZ5HAAACAAJ&redir_esc=y.

Jurgens, U. J., and J. Weckesser. 1985. "Carotenoid-Containing Outer Membrane of Synechocystis Sp. Strain PCC6714." *Journal of Bacteriology* 164 (1). American Society for Microbiology (ASM): 384–89. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3930470

Kana, T M, and P M Glibert. 1987. "Effect of Irradiances up to 2000 UE M-2 s-1 on Marine Synechococcus WH7803- I. Growth, Pigmentation, and Cell Composition." *Deep Sea Research*. Vol. 34. doi:10.1016/0198-0149(87)90001-X.

K

Kana, T M, Patricia M Glibert, Ralf Goericke, and Nicholas Welschmeyer. 1988. "Zeaxanthin and P-Carotene in Synecchococcus WH7803 Respond Differently to Irradiance." *Limnology and Oceanography* 33 (6 part 2): 1623–27. http://scrippsscholars.ucsd.edu/rgoericke/content/zeaxanthin-and-beta-carotene-synechococcus-wh7803-respond-differently-irradiance.

Kashtan, Nadav, Sara E. Roggensack, Sébastien Rodrigue, Jessie W. Thompson, Steven J. Biller, Allison Coe, Huiming Ding, et al. 2014. "Single-Cell Genomics Reveals Hundreds of Coexisting Subpopulations in Wild Prochlorococcus." *Science* 344 (6182): 416–20. doi:10.1126/science.1248575.

Kates, M, E L Pugh, and G Ferrante. 1984. "Regulation of Membrane Fluidity by Lipid Desaturases." In *Membrane Fluidity*, 379–95. Boston, MA: Springer US. doi:10.1007/978-1-4684-4667-8_12.

Kirilovsky, Diana. 2007. "Photoprotection in Cyanobacteria: The Orange Carotenoid Protein (OCP)-Related Non-Photochemical-Quenching Mechanism." *Photosynthesis Research* 93 (1–3). Springer Netherlands: 7–16. doi:10.1007/s11120-007-9168-y.

Klähn, Stephan, Desirée Baumgartner, Ulrike Pfreundt, Karsten Voigt, Verena Schön, Claudia Steglich, and Wolfgang R. Hess. 2014. "Alkane Biosynthesis Genes in Cyanobacteria and Their Transcriptional Organization." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2. Frontiers Media SA: 24. doi:10.3389/fbioe.2014.00024.

Komenda, Josef, and Roman Sobotka. 2016. "Cyanobacterial High-Light-Inducible Proteins - Protectors of Chlorophyll-Protein Synthesis and Assembly." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1857 (3). Elsevier: 288–95. doi:10.1016/j.bbabio.2015.08.011.

Krieger-Liszkay, Anja, and Kathleen Feilke. 2016. "The Dual Role of the Plastid Terminal Oxidase PTOX: Between a Protective and a Pro-Oxidant Function." *Frontiers in Plant Science* 6: 1147. doi:10.3389/fpls.2015.01147.

Kusama, Yuri, Shuhei Inoue, Haruhiko Jimbo, Shinichi Takaichi, Kintake Sonoike, Yukako Hihara, and Yoshitaka Nishiyama. 2015. "Zeaxanthin and Echinenone Protect the Repair of Photosystem II from Inhibition by Singlet Oxygen in Synechocystis Sp. PCC 6803." *Plant and Cell Physiology* 56 (5): 906–16. doi:10.1093/pcp/pcv018.

L

Lantoine, François, and Jacques Neveux. 1997. "Spatial and Seasonal Variations in Abundance and Spectral Characteristics of Phycoerythrins in the Tropical Northeastern Atlantic Ocean." *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 44 (2). Pergamon: 223–46. doi:10.1016/S0967-0637(96)00094-5.

Larsson, John, Narin Celepli, Karolina Ininbergs, Christopher L. Dupont, Shibu Yooseph, Bigitta Bergman, and Martin Ekman. 2014. "Picocyanobacteria Containing a Novel Pigment Gene Cluster Dominate the Brackish Water Baltic Sea." *ISME Journal* 8 (9). Nature Publishing Group: 1892–1903. doi:10.1038/ismej.2014.35.

Lea-Smith, David J., Steven J. Biller, Matthew P. Davey, Charles A. R. Cotton, Blanca M. Perez Sepulveda, Alexandra V. Turchyn, David J. Scanlan, Alison G. Smith, Sallie W. Chisholm, and Christopher J. Howe. 2015. "Contribution of Cyanobacterial Alkane Production to the Ocean Hydrocarbon Cycle." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (44). National Academy of Sciences: 13591–96. doi:10.1073/pnas.1507274112.

Lennon, Adrian M., Peerada Prommeenate, and Peter J. Nixon. 2003. "Location, Expression and Orientation of the Putative Chlororespiratory Enzymes, Ndh and IMMUTANS, in Higher-Plant Plastids." *Planta* 218 (2): 254–60. doi:10.1007/s00425-003-1111-7.

Leverenz, Ryan L., Markus Sutter, Adjélé Wilson, Sayan Gupta, Adrien Thurotte, Céline Bourcier De Carbon, Christopher J. Petzold, et al. 2015. "A 12 Å Carotenoid Translocation in a Photoswitch Associated with Cyanobacterial Photoprotection." *Science* 348 (6242): 1463–66. doi:10.1126/science.aaa7234.

Li, William K W. 1994. "Primary Production of Prochlorophytes, Cyanobacteria, and Eucaryotic Ultraphytoplankton: Measurements from Flow Cytometric Sorting." *Limnology and Oceanography* 39 (1): 169–75. doi:10.4319/lo.1994.39.1.0169.

Li, Ye, Jianping Zhang, Jie Xie, Jingquan Zhao, and Lijin Jiang. 2001. "Temperature-Induced Decoupling of Phycobilisomes from Reaction Centers." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1504 (2–3): 229–34. doi:10.1016/S0005-2728(00)00250-4.

Liu, Hongbin. 1997. "Prochlorococcus Growth Rate and Contribution to Primary Production in the Equatorial and Subtropical North Pacific Ocean."

Loll, Bernhard, Jan Kern, Wolfram Saenger, Athina Zouni, and Jacek Biesiadka. 2005. "Towards Complete Cofactor Arrangement in the 3.0Å Resolution Structure of Photosystem II." *Nature* 438 (7070): 1040–44. doi:10.1038/nature04224.

Los, Dmitry A., and Norio Murata. 1998. "Structure and Expression of Fatty Acid Desaturases." *Biochimica et Biophysica Acta - Lipids and Lipid Metabolism* 1394 (1): 3–15. doi:10.1016/S0005-2760(98)00091-5.

———. 2004. "Membrane Fluidity and Its Roles in the Perception of Environmental Signals." *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1666 (1–2): 142–57. doi:10.1016/j.bbamem.2004.08.002.

Los, Dmitry, and Kirill Mironov. 2015. "Modes of Fatty Acid Desaturation in Cyanobacteria: An Update." *Life* 5 (1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 554–67. doi:10.3390/life5010554.

Lovejoy, Connie, Warwick F. Vincent, Sylvia Bonilla, Suzanne Roy, Marie Josée Martineau, Ramon Terrado, Marianne Potvin, Ramon Massana, and Carlos Pedrós-Alió. 2007. "Distribution, Phylogeny, and Growth of Cold-Adapted Picoprasinophytes in Arctic Seas." *Journal of Phycology* 43 (1): 78–89. doi:10.1111/j.1529-8817.2006.00310.x.

Lukeš, Martin, Lenka Procházková, Volha Shmidt, Linda Nedbalová, and David Kaftan. 2014. "Temperature Dependence of Photosynthesis and Thylakoid Lipid Composition in the Red Snow Alga Chlamydomonas Cf. Nivalis (Chlorophyceae)." *FEMS Microbiology Ecology* 89 (2): 303–15. doi:10.1111/1574-6941.12299.

M

Mackey, K. R. M., A. Paytan, K. Caldeira, A. R. Grossman, D. Moran, M. McIlvin, and M. A. Saito. 2013. "Effect of Temperature on Photosynthesis and Growth in Marine Synechococcus Spp." *Plant Physiology* 163 (2). American Society of Plant Biologists: 815–29. doi:10.1104/pp.113.221937.

Malmstrom, Rex R, Allison Coe, Gregory C Kettler, Adam C Martiny, Jorge Frias-Lopez, Erik R Zinser, and Sallie W Chisholm. 2010. "Temporal Dynamics of Prochlorococcus Ecotypes in the Atlantic and Pacific Oceans." *The ISME Journal* 4 (10): 1252–64. doi:10.1038/ismej.2010.60.

Mazard, Sophie, Martin Ostrowski, Frédéric Partensky, and David J. Scanlan. 2012. "Multi-Locus Sequence Analysis, Taxonomic Resolution and Biogeography of Marine Synechococcus." *Environmental Microbiology* 14 (2). Wiley/Blackwell (10.1111): 372–86. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02514.x.

McDonald, Allison E., Alex G. Ivanov, Rainer Bode, Denis P. Maxwell, Steven R. Rodermel, and Norman P.A. Hüner. 2011. "Flexibility in Photosynthetic Electron Transport: The Physiological Role of Plastoquinol Terminal Oxidase (PTOX)." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1807 (8): 954–67. doi:10.1016/j.bbabio.2010.10.024.

Melis, A. 1989. "Spectroscopic Methods in Photosynthesis: Photosystem Stoichiometry and Chlorophyll Antenna Size." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 323 (1216). The Royal Society: 397–409. doi:10.1098/rstb.1989.0019.

Mella-Flores, D., S. Mazard, F. Humily, F. Partensky, F. Mahé, L. Bariat, C. Courties, et al. 2011. "Is the Distribution of Prochlorococcus and Synechococcus Ecotypes in the Mediterranean Sea Affected by Global Warming?" *Biogeosciences* 8 (9). Copernicus GmbH: 2785–2804. doi:10.5194/bg-8-2785-2011.

Merritt, Margaret V, Sarah P Rosenstein, Christine Loh, Rachel Hsui-sui Chou, and Mary M Allen. 1991. "A Comparison of the Major Lipid Classes and Fatty Acid Composition of Marine Unicellular Cyanobacteria with Freshwater Species." *Archives of Microbiology* 155 (2). Springer-Verlag: 107–13. doi:10.1007/BF00248602.

Mikami, Koji, and Norio Murata. 2003. "Membrane Fluidity and the Perception of Environmental Signals in Cyanobacteria and Plants." *Progress in Lipid Research* 42 (6): 527–43. doi:10.1016/S0163-7827(03)00036-5.

Miśkiewicz, Ewa, Alexander G. Ivanov, John P. Williams, Mobashsher U. Khan, Stefan Falk, and Norman P.A. Huner. 2000. "Photosynthetic Acclimation of the Filamentous Cyanobacterium, Plectonema Boryanum UTEX 485, to Temperature and Light." *Plant and Cell Physiology*. Vol. 41. doi:10.1093/pcp/41.6.767.

Moore, L. R., R. Goericke, and S. W. Chisholm. 1995. "Comparative Physiology of Synechococcus and Prochlorococcus: Influence of Light and Temperature on Growth, Pigments, Fluorescence and Absorptive Properties." *Marine Ecology Progress Series* 116 (1–3): 259–76. doi:10.3354/meps116259.

Moore, L R, G Rocap, and S W Chisholm. 1997. "Physiology and Molecular Phylogeny of Coexisting Prochlorococcus Ecotypes." *Nature* 393 (6684): 464–67. doi:10.1038/30965.

Moore, Lisa R., and Sallie W. Chisholm. 1999. "Photophysiology of the Marine Cyanobacterium Prochlorococcus: Ecotypic Differences among Cultured Isolates." *Limnology and Oceanography* 44 (3 I). Wiley-Blackwell: 628–38. doi:10.4319/lo.1999.44.3.0628.

Moore, LR, M Ostrowski, DJ Scanlan, K Feren, and T Sweetsir. 2005. "Ecotypic Variation in Phosphorus-Acquisition Mechanisms within Marine Picocyanobacteria." *Aquatic Microbial Ecology* 39 (3): 257–69. doi:10.3354/ame039257.

Mooy, B. A. S. Van, G. Rocap, H. F. Fredricks, C. T. Evans, and A. H. Devol. 2006. "Sulfolipids Dramatically Decrease Phosphorus Demand by Picocyanobacteria in Oligotrophic Marine Environments." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (23). National Academy of Sciences: 8607–12. doi:10.1073/pnas.0600540103.

Mooy, Benjamin A. S. Van, Helen F. Fredricks, Byron E. Pedler, Sonya T. Dyhrman, David M. Karl, Michal Koblízek, Michael W. Lomas, et al. 2009. "Phytoplankton in the Ocean Use Non-Phosphorus Lipids in Response to Phosphorus Scarcity." *Nature* 458 (7234): 69–72. doi:10.1038/nature07659.

Mullineaux, Conrad W., and Daniel Emlyn-Jones. 2005. "State Transitions: An Example of Acclimation to Low-Light Stress." *Journal of Experimental Botany* 56 (411): 389–93. doi:10.1093/jxb/eri064.

Murata, N., and H. Wada. 1995. "Acyl-Lipid Desaturases and Their Importance in the Tolerance and Acclimatization to Cold of Cyanobacteria." *The Biochemical Journal* 308 (Pt 1 (May): 1–8.

Murata, Norio, Hajime Wada, and Zoltan Gombos. 1992. "Modes of Fatty-Acid Desaturation in Cyanobacteria." *Plant Cell Physiol.* 33 (7). Oxford University Press: 933–41. doi:10.1017/S1473550408004175.

N

Nickelsen, Jörg, and Birgit Rengstl. 2013. "Photosystem II Assembly: From Cyanobacteria to Plants." *Annual Review of Plant Biology* 64 (1): 609–35. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120124.

O

Ogawa, Takako, Masahiro Misumi, and Kintake Sonoike. 2017. "Estimation of Photosynthesis in Cyanobacteria by Pulse-Amplitude Modulation Chlorophyll Fluorescence: Problems and Solutions." *Photosynthesis Research* 133 (1–3): 63–73. doi:10.1007/s11120-017-0367-x.

Omata, T, and N Murata. 1984. "Isolation and Characterization of Three Types of Membranes from the Cyanobacterium, Synechocystis 6714." *Archives of Microbiology* 139: 113–16. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00401984.pdf.

Osburne, Marcia S, Brianne M Holmbeck, Jorge Frias-Lopez, Robert Steen, Katherine Huang, Libusha Kelly, Allison Coe, Kristin Waraska, Andrew Gagne, and Sallie W Chisholm. 2010. "UV Hyper-Resistance in Prochlorococcus MED4 Results from a Single Base Pair Deletion Just Upstream of an Operon Encoding Nudix Hydrolase and Photolyase." *Environmental Microbiology* 12 (7). Wiley-Blackwell: 1978–88. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02203.x.

P

Palenik, B. 2001. "Chromatic Adaptation in Marine Synechococcus Strains." *Applied and Environmental Microbiology* 67 (2). American Society for Microbiology (ASM): 991–94. doi:10.1128/AEM.67.2.991-994.2001.

Partensky, F, W R Hess, and D Vaulot. 1999. "Prochlorococcus, a Marine Photosynthetic Prokaryote of Global Significance." *Microbiol.Mol Biol.Rev.* 63 (1): 106–27. doi:doi:1092-2172/99/$04.00.

Partensky, Frédéric, and Laurence Garczarek. 2010. "*Prochlorococcus* : Advantages and Limits of Minimalism." *Annual Review of Marine Science* 2 (1). Annual Reviews : 305–31. doi:10.1146/annurev-marine-120308-081034.

Paulsen, Maria L., Hugo Doré, Laurence Garczarek, Lena Seuthe, Oliver Müller, Ruth-Anne Sandaa, Gunnar Bratbak, and Aud Larsen. 2016. "Synechococcus in the Atlantic Gateway to the Arctic Ocean." *Frontiers in Marine Science* 3 (October). Frontiers: 191. doi:10.3389/fmars.2016.00191.

Pham Quoc, Kiet, and Jean Paul Dubacq. 1997. "Effect of Growth Temperature on the Biosynthesis of Eukaryotic Lipid Molecular Species by the Cyanobacterium Spirulina Platensis." *Biochimica et Biophysica Acta - Lipids and Lipid Metabolism* 1346 (3): 237–46. doi:10.1016/S0005-2760(97)00039-8.

Pittera, Justine. 2015. "Adaptation Au Gradient Latitudinal De Temperature Chez Les Cyanobacteries Marines Du Genre Synechococcus." *Thesis*. Université Pierre et Marie Curie.

Pittera, Justine, Florian Humily, Maxine Thorel, Daphné Grulois, Laurence Garczarek, and Christophe Six. 2014. "Connecting Thermal Physiology and Latitudinal Niche Partitioning in Marine Synechococcus." *ISME Journal* 8 (6). Nature Publishing Group: 1221–36. doi:10.1038/ismej.2013.228.

Pittera, Justine, Juliette Jouhet, Solène Breton, Laurence Garczarek, Frédéric Partensky, Éric Maréchal, Ngoc A. Nguyen, et al. 2018. "Thermoacclimation and Genome Adaptation of the Membrane Lipidome in Marine Synechococcus." *Environmental Microbiology* 20 (2): 612–31. doi:10.1111/1462-2920.13985.

Pittera, Justine, Frédéric Partensky, and Christophe Six. 2017. "Adaptive Thermostability of Light-Harvesting Complexes in Marine Picocyanobacteria." *The ISME Journal* 11 (1): 112–24. doi:10.1038/ismej.2016.102.

Popova, Antoaneta V., and Atanaska S. Andreeva. 2013. "Carotenoid-Lipid Interactions." *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes* 17 (January). Academic Press: 215–36. doi:10.1016/B978-0-12-411516-3.00008-5.

R

Reddin, Carl J., Felipe Docmac, Nessa E. O'Connor, John H. Bothwell, and Chris Harrod. 2015. "Coastal Upwelling Drives Intertidal Assemblage Structure and Trophic Ecology." Edited by Moncho Gomez-Gesteira. *PLoS ONE* 10 (7). Public Library of Science: e0130789. doi:10.1371/journal.pone.0130789.

Rippka, R., J. Waterbury, and G. Cohen-Bazire. 1974. "A Cyanobacterium Which Lacks Thylakoids." *Archives of Microbiology*. Vol. 100. doi:10.1007/BF00446333.

Rippka, R, T Coursin, W Hess, C Lichtlé, D J Scanlan, K A Palinska, I Iteman, F Partensky, J Houmard, and M Herdman. 2000. "Prochlorococcus Marinus Chisholm et Al. 1992 Subsp. Pastoris Subsp. Nov. Strain PCC 9511, the First Axenic Chlorophyll A2/B2-Containing Cyanobacterium (Oxyphotobacteria)." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50 (5). Microbiology Society: 1833–47. doi:10.1099/00207713-50-5-1833.

Rippka, Rosmarie, Josette Deruelles, John B. Waterbury, Michael Herdman, and Roger Y. Stanier. 1979. "Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria." *Microbiology* 111 (1): 1–61. doi:10.1099/00221287-111-1-1.

Roach, Thomas, and Anja Krieger-Liszkay. 2012. "The Role of the PsbS Protein in the Protection of Photosystems i and II against High Light in Arabidopsis Thaliana." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1817 (12): 2158–65. doi:10.1016/j.bbabio.2012.09.011.

Rocap, Gabrielle, Frank W. Larimer, Jane Lamerdin, Stephanie Malfatti, Patrick Chain, Nathan A. Ahlgren, Andrae Arellano, et al. 2003. "Genome Divergence in Two Prochlorococcus Ecotypes Reflects Oceanic Niche Differentiation." *Nature* 424 (6952). Nature Publishing Group: 1042–47. doi:10.1038/nature01947.

Rodríguez-Vargas, Sonia, Alicia Sánchez-García, Jose Manuel Martínez-Rivas, Jose Antonio Prieto, and Francisca Randez-Gil. 2007. "Fluidization of Membrane Lipids Enhances the Tolerance of Saccharomyces Cerevisiae to Freezing and Salt Stress." *Applied and Environmental Microbiology* 73 (1): 110–16. doi:10.1128/AEM.01360-06.

S

Saito, Mak A., Gabrielle Rocap, and James W. Moffett. 2005. "Production of Cobalt Binding Ligands in a Synechococcus Feature at the Costa Rica Upwelling Dome." *Limnology and Oceanography* 50 (1). Wiley-Blackwell: 279–90. doi:10.4319/lo.2005.50.1.0279.

Sakurai, I., Miki Hagio, Zoltan Gombos, Taina Tyystjarvi, Virpi Paakkarinen, Eva-Mari Aro, and Hajime Wada. 2003. "Requirement of Phosphatidylglycerol for Maintenance of Photosynthetic Machinery." *PLANT PHYSIOLOGY* 133 (3): 1376–84. doi:10.1104/pp.103.026955.

Sakurai, Isamu, Jian Ren Shen, Jing Leng, Shunsuke Ohashi, Masami Kobayashi, and Hajime Wada. 2006. "Lipids in Oxygen-Evolving Photosystem II Complexes of Cyanobacteria and Higher Plants." *Journal of Biochemistry* 140 (2): 201–9. doi:10.1093/jb/mvj141.

Sánchez-Baracaldo, Patricia. 2015. "Origin of Marine Planktonic Cyanobacteria." *Scientific Reports* 5. doi:10.1038/srep17418.

Sardet, Christian. 2013. *Plancton : Aux Origines Du Vivant*. Ulmer. https://www.editions-ulmer.fr/editions-ulmer/plancton-aux-origines-du-vivant-prix-du-meilleur-guide-du-monde-sous-marin-2014-362-cl.htm.

Sato, Naoki. 2015. "Is Monoglucosyldiacylglycerol a Precursor to Monogalactosyldiacylglycerol in All Cyanobacteria?" *Plant and Cell Physiology* 56 (10): 1890–99. doi:10.1093/pcp/pcv116.

Sato, Naoki, and Norio Murata. 1982. "Lipid Biosynthesis in the Blue-Green Alga (Cyanobacterium), <Italic>Anabaena Variabilis</Italic> III. UDPglucose:Diacylglycerol Glucosyltransferase Activity in Vitro." *Plant and Cell Physiology* 23 (6). Oxford University Press: 1115–20. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a076441.

Sato, Norihiro, and Hajime Wada. 2009. "Lipid Biosynthesis and Its Regulation in Cyanobacteria." In , 157–77. Springer Netherlands. doi:10.1007/978-90-481-2863-1_8.

Scanlan, D. J., M. Ostrowski, S. Mazard, A. Dufresne, L. Garczarek, W. R. Hess, A. F. Post, M. Hagemann, I. Paulsen, and F. Partensky. 2009. "Ecological Genomics of Marine Picocyanobacteria." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 73 (2). American Society for Microbiology: 249–99. doi:10.1128/MMBR.00035-08.

Schirrmeister, Bettina E., Muriel Gugger, and Philip C.J. Donoghue. 2015. "Cyanobacteria and the Great Oxidation Event: Evidence from Genes and Fossils." *Palaeontology* 58 (5). Wiley-Blackwell: 769–85. doi:10.1111/pala.12178.

Schopf, J. William. 2002. "The Fossil Record: Tracing the Roots of the Cyanobacterial Lineage." In *The Ecology of Cyanobacteria*, 13–35. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. doi:10.1007/0-306-46855-7.

Sherman, D. M., Tracy A Troyan, and Louis A Sherman. 1994. "Localization of Membrane Proteins in the Cyanobacterium Synechococcus Sp. PCC7942 (Radial Asymmetry in the Photosynthetic Complexes)." *Plant Physiology* 106 (1). American Society of Plant Biologists: 251–62. doi:10.1104/pp.106.1.251.

Shukla, Mahendra Kumar, Manuel J. Llansola-Portoles, Martin Tichý, Andrew A. Pascal, Bruno Robert, and Roman Sobotka. 2018. "Binding of Pigments to the Cyanobacterial High-Light-Inducible Protein HliC." *Photosynthesis Research* 137 (1). Springer Netherlands: 29–39. doi:10.1007/s11120-017-0475-7.

Sidler, Walter A. 1994. "Phycobilisome and Phycobiliprotein Structures." In *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, 139–216. Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-011-0227-8_7.

Sieburth, John Mc N, Victor Smetacek, and Jürgen Lenz. 1978. "Pelagic Ecosystem Structure: Heterotrophic Compartments of the Plankton and Their Relationship to Plankton Size Fractions." *Limnology and Oceanography* 23 (6). Wiley-Blackwell: 1256–63. doi:10.4319/lo.1978.23.6.1256.

Six, C., J. C. Thomas, B. Brahamsha, Y. Lemoine, and F. Partensky. 2004. "Photophysiology of the Marine Cyanobacterium Synechococcus Sp. WH8102, a New Model Organism." *Aquatic Microbial Ecology* 35 (1): 17–29. doi:10.3354/ame035017.

Six, Christophe, Ludovic Joubin, Frédéric Partensky, Julia Holtzendorff, and Laurence Garczarek. 2007. "UV-Induced Phycobilisome Dismantling in the Marine Picocyanobacterium Synechococcus Sp. WH8102." *Photosynthesis Research* 92 (1): 75–86. doi:10.1007/s11120-007-9170-4.

Six, Christophe, Jean Claude Thomas, Laurence Garczarek, Martin Ostrowski, Alexis Dufresne, Nicolas Blot, David J. Scanlan, and Frédéric Partensky. 2007. "Diversity and Evolution of Phycobilisomes in Marine Synechococcus Spp.: A Comparative Genomics Study." *Genome Biology* 8 (12): R259. doi:10.1186/gb-2007-8-12-r259.

Six, Christophe, Jean Claude Thomas, Laurent Thion, Yves Lemoine, Frank Zal, and Frédéric Partensky. 2005. "Two Novel Phycoerythrin-Associated Linker Proteins in the Marine Cyanobacterium Synechococcus Sp. Strain WH8102." *Journal of Bacteriology* 187 (5): 1685–94. doi:10.1128/JB.187.5.1685-1694.2005.

Six, Christophe, Alexandra Z. Worden, Francisco Rodríguez, Hervé Moreau, and Frédéric Partensky. 2005. "New Insights into the Nature and Phylogeny of Prasinophyte Antenna Proteins: Ostreococcus Tauri, a Case Study." *Molecular Biology and Evolution* 22 (11): 2217–30. doi:10.1093/molbev/msi220.

Sohlenkamp, Christian, and Otto Geiger. 2015. "Bacterial Membrane Lipids: Diversity in Structures and Pathways." *FEMS Microbiology Reviews* 40 (1): 133–59. doi:10.1093/femsre/fuv008.

Sohm, Jill A., Nathan A. Ahlgren, Zachary J. Thomson, Cheryl Williams, James W. Moffett, Mak A. Saito, Eric A. Webb, and Gabrielle Rocap. 2016. "Co-Occurring Synechococcus Ecotypes Occupy Four Major Oceanic Regimes Defined by Temperature, Macronutrients and Iron." *ISME Journal* 10 (2). Nature Publishing Group: 333–45. doi:10.1038/ismej.2015.115.

Staleva, Hristina, Josef Komenda, Mahendra K. Shukla, Václav Šlouf, Radek Kanâ, Tomáš Polívka, and Roman Sobotka. 2015. "Mechanism of Photoprotection in the Cyanobacterial Ancestor of Plant Antenna Proteins." *Nature Chemical Biology* 11 (4): 287–91. doi:10.1038/nchembio.1755.

Stanier, R Y, and G C Bazine. 1977. "Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria." *Annual Review of Microbiology* 31 (1). Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA: 225–74. doi:10.1146/annurev.mi.31.100177.001301.

Steiger, Sabine, Lutz Schäfer, and Gerhard Sandmann. 1999. "High-Light-Dependent Upregulation of Carotenoids and Their Antioxidative Properties in the Cyanobacterium Synechocystis PCC 6803." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 52 (1–3). Elsevier: 14–18. doi:10.1016/S1011-1344(99)00094-9.

Stoitchkova, Katerina, Ottó Zsiros, Tamás Jávorfi, Tibor Páli, Atanaska Andreeva, Zoltán Gombos, and Gyozo Garab. 2007. "Heat- and Light-Induced Reorganizations in the Phycobilisome Antenna of Synechocystis Sp. PCC 6803. Thermo-Optic Effect." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1767 (6). Elsevier: 750–56. doi:10.1016/j.bbabio.2007.03.002.

Sutter, M., A. Wilson, R. L. Leverenz, R. Lopez-Igual, A. Thurotte, A. E. Salmeen, D. Kirilovsky, and C. A. Kerfeld. 2013. "Crystal Structure of the FRP and Identification of the Active Site for Modulation of OCP-Mediated Photoprotection in Cyanobacteria." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (24): 10022–27. doi:10.1073/pnas.1303673110.

T

Takahashi, Shunichi, and Norio Murata. 2008. "How Do Environmental Stresses Accelerate Photoinhibition?" *Trends in Plant Science* 13 (4): 178–82. doi:10.1016/j.tplants.2008.01.005.

Takaichi, Shinichi. 2011. "Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions." *Marine Drugs* 9 (6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI): 1101–18. doi:10.3390/md9061101.

Tamaru, Yoshiyuki, Yayoi Takani, Takayuki Yoshida, and Toshio Sakamoto. 2005. "Crucial Role of Extracellular Polysaccharides in Desiccation and Freezing Tolerance in the Terrestrial Cyanobacterium Nostoc Commune." *Applied and Environmental Microbiology* 71 (11). American Society for Microbiology (ASM): 7327–33. doi:10.1128/AEM.71.11.7327-7333.2005.

Tamary, Eyal, Vladimir Kiss, Reinat Nevo, Zach Adam, Gábor Bernát, Sascha Rexroth, Matthias Rögner, and Ziv Reich. 2012. "Structural and Functional Alterations of Cyanobacterial Phycobilisomes Induced by High-Light Stress." *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1817 (2): 319–27. doi:10.1016/j.bbabio.2011.11.008.

Tang, Evonne P.Y., Roxanne Tremblay, and Warwick F. Vincent. 1997. "Cyanobacterial Dominance of Polar Freshwater Ecosystems: Are High-Latitude Mat-Formers Adapted to Low Temperature?" *Journal of Phycology* 33 (2). Wiley/Blackwell (10.1111): 171–81. doi:10.1111/j.0022-3646.1997.00171.x.

Telfer, Alison. 2005. "Too Much Light? How β-Carotene Protects the Photosystem II Reaction Centre." *Photochemical and Photobiological Sciences* 4 (12). The Royal Society of Chemistry: 950–56. doi:10.1039/b507888c.

Thor, J. J. Van, C. W. Mullineaux, H. C.P. Matthijs, and K. J. Hellingwerf. 1998. "Light Harvesting and State Transitions in Cyanobacteria." *Botanica Acta* 111 (6). Wiley/Blackwell (10.1111): 430–43. doi:10.1111/j.1438-8677.1998.tb00731.x.

Tomitani, A.K.I.K. 2009. "Origin and Early Evolution of Chloroplasts." *Paleontological Research* 10 (4). Palaeontological Society of Japan: 283–97. doi:10.2517/prpsj.10.283.

Tóth, Tünde N., Volha Chukhutsina, Ildikó Domonkos, Jana Knoppová, Josef Komenda, Mihály Kis, Zsófia Lénárt, et al. 2015. "Carotenoids Are Essential for the Assembly of Cyanobacterial Photosynthetic Complexes." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1847 (10). Elsevier: 1153–65. doi:10.1016/J.BBABIO.2015.05.020.

Toulmond, André. 2006. "Les Scientifiques Sur Les Chemins Des Mers : Une Brève Histoire Illustrée de l ' Océanographie," 1–16. http://www.sb-roscoff.fr/sites/www.sb-roscoff.fr/files/documents/station-biologique-roscoff-breve-histoire-illustree-de-l-oceanographie-3078.pdf.

Trebst, Achim. 2003. "Function of Beta-Carotene and Tocopherol in Photosystem II." *Zeitschrift Fur Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie* 58 (9–10): 609–20. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14577617.

Truchot, Jean-Paul. 2011. "De La Biologie Marine a L'Oceanographie Biologique : L'Evolution De La Connaissance Biologique Marine Depuis Le Milieu Du Xix." Accessed January 1. http://www.sb-roscoff.fr/sites/www.sb-roscoff.fr/files/documents/station-biologique-roscoff-de-la-biologie-marine-a-l-oceanographie-biologique-3079.pdf.

U

Umena, Yasufumi, Keisuke Kawakami, Jian-Ren Shen, and Nobuo Kamiya. 2011. "Crystal Structure of Oxygen-Evolving Photosystem II at a Resolution of 1.9Å." *Nature* 473 (7345): 55–60. doi:10.1038/nature09913.

V

Vargas, Colomban De, Stéphane Audic, Nicolas Henry, Johan Decelle, Frédéric Mahé, Ramiro Logares, Enrique Lara, et al. 2015. "Eukaryotic Plankton Diversity in the Sunlit Ocean." *Science* 348 (6237). American Association for the Advancement of Science: 1261605. doi:10.1126/science.1261605.

Varkey, Deepa, Sophie Mazard, Martin Ostrowski, Sasha G Tetu, Paul Haynes, and Ian T Paulsen. 2016. "Effects of Low Temperature on Tropical and Temperate Isolates of Marine Synechococcus." *The ISME Journal* 10 (5): 1252–63. doi:10.1038/ismej.2015.179.

Vincent, Warwick F. 2000. "Cyanobacterial Dominance in the Polar Regions." In *The Ecology of Cyanobacteria*, 321–40. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. doi:10.1007/0-306-46855-7_12.

W

Wada, H., and N. Murata. 1990. "Temperature-Induced Changes in the Fatty Acid Composition of the Cyanobacterium, Synechocystis PCC6803." *Plant Physiology* 92 (4). American Society of Plant Biologists: 1062–69. doi:10.1104/pp.92.4.1062.

Wada, Hajime, and Norio Murata. 1998. "Membrane Lipids in Cyanobacteria." In *Lipids in Photosynthesis: Structure, Function and Genetics*, 65–81. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. doi:10.1007/0-306-48087-5_4.

Waterbury, J. B., S.W. Watson, F. W. Valois, and D. G. Franks. 1986. "Biological and Ecological Characterization of the Marine Unicellular Cyanobacterium Synechococcus." *Photosynthetic Picoplankton. Can. Bull. Fish. Aquatic Sci.* 214: 71–120. https://ci.nii.ac.jp/naid/10025554653/.

Waterbury, John B., Stanley W. Watson, Robert R.L. Guillard, and Larry E. Brand. 1979. "Widespread Occurrence of a Unicellular, Marine, Planktonic, Cyanobacterium [10]." *Nature* 277 (5694). Nature Publishing Group: 293–94. doi:10.1038/277293a0.

Wiesław I.Gruszecki, and Kazimierz Strzałka. 2005. "Carotenoids as Modulators of Lipid Membrane Physical Properties." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1740 (2). Elsevier: 108–15. doi:10.1016/J.BBADIS.2004.11.015.

Wilson, A., C. Punginelli, A. Gall, C. Bonetti, M. Alexandre, J.-M. Routaboul, C. A. Kerfeld, et al. 2008. "A Photoactive Carotenoid Protein Acting as Light Intensity Sensor." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (33): 12075–80. doi:10.1073/pnas.0804636105.

Wilson, Adjélé, Ghada Ajlani, Jean-Marc Verbavatz, Imre Vass, Cheryl A Kerfeld, and Diana Kirilovsky. 2006. "A Soluble Carotenoid Protein Involved in Phycobilisome-Related Energy Dissipation in Cyanobacteria." doi:10.1105/tpc.105.040121.

Wu, Dongying, David A Wright, Carolyn Wetzel, Daniel F Voytas, and Steven Rodermel. 1999. "The IMMUTANS Variegation Locus of Arabidopsis Defines a Mitochondrial Alternative Oxidase Homolog That Functions during Early Chloroplast Biogenesis." *The Plant Cell*. Vol. 11. www.plantcell.org.

X

Xia, Xiaomin, Hongbin Liu, Donghan Choi, and Jae Hoon Noh. 2018. "Variation of Synechococcus Pigment Genetic Diversity Along Two Turbidity Gradients in the China Seas." *Microbial Ecology* 75 (1): 10–21. doi:10.1007/s00248-017-1021-z.

Xia, Xiaomin, Frédéric Partensky, Laurence Garczarek, Koji Suzuki, Cui Guo, Shun Yan Cheung, and Hongbin Liu. 2017. "Phylogeography and Pigment Type Diversity of *Synechococcus* Cyanobacteria in Surface Waters of the Northwestern Pacific Ocean." *Environmental Microbiology* 19 (1). Wiley/Blackwell (10.1111): 142–58. doi:10.1111/1462-2920.13541.

Xu, Wu, and Yingchun Wang. 2017. "Function and Structure of Cyanobacterial Photosystem I." In *Photosynthesis: Structures, Mechanisms, and Applications*, 111–68. Cham: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-48873-8_7.

Y

Yamamori, T., H. Kageyama, Y. Tanaka, and T. Takabe. 2018. "Requirement of Alkanes for Salt Tolerance of Cyanobacteria: Characterization of Alkane Synthesis Genes from Salt-Sensitive Synechococcus Elongatus PCC7942 and Salt-Tolerant Aphanothece Halophytica." *Letters in Applied Microbiology* 67 (3): 299–305. doi:10.1111/lam.13038.

Yamamoto, Yasusi. 2016. "Quality Control of Photosystem II: The Mechanisms for Avoidance and Tolerance of Light and Heat Stresses Are Closely Linked to Membrane Fluidity of the Thylakoids." *Frontiers in Plant Science* 7. doi:10.3389/fpls.2016.01136.

Z

Zak, E., B. Norling, R. Maitra, F. Huang, B. Andersson, and H. B. Pakrasi. 2001. "The Initial Steps of Biogenesis of Cyanobacterial Photosystems Occur in Plasma Membranes." *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 98. doi:10.1073/pnas.241503898.

Zapata, M., and J. L. Garrido. 1991. "Influence of Injection Conditions in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography of Chlorophylls and Carotenoids." *Chromatographia* 31 (11–12). Springer-Verlag: 589–94. doi:10.1007/BF02279480.

Zapata, Manuel, Francisco Rodríguez, and José L. Garrido. 2000. "Separation of Chlorophylls and Carotenoids from Marine Phytoplankton: A New HPLC Method Using a Reversed Phase C8 Column and Pyridine-Containing Mobile Phases." *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 195. doi:10.3354/meps195029.

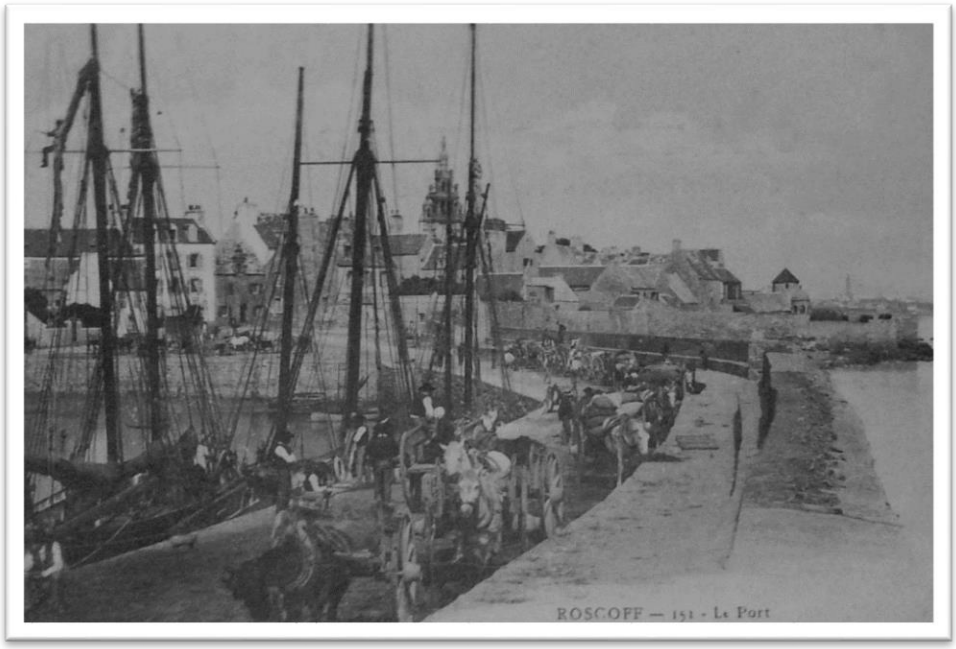
Zhu, Yuehui, Joel E. Graham, Marcus Ludwig, Wei Xiong, Richard M. Alvey, Gaozhong Shen, and Donald A. Bryant. 2010. "Roles of Xanthophyll Carotenoids in Protection against Photoinhibition and Oxidative Stress in the Cyanobacterium Synechococcus Sp. Strain PCC 7002." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 504 (1): 86–99. doi:10.1016/j.abb.2010.07.007.

Zinser, Erik R., Allison Coe, Zackary I. Johnson, Adam C. Martiny, Nicholas J. Fuller, David J. Scanlan, and Sallie W. Chisholm. 2006. "Prochlorococcus Ecotype Abundances in the North Atlantic Ocean as Revealed by an Improved Quantitative PCR Method." *Applied and Environmental Microbiology* 72 (1). American Society for Microbiology: 723–32. doi:10.1128/AEM.72.1.723-732.2006.

Zwirglmaier, Katrin, Jane L. Heywood, Katie Chamberlain, E. Malcolm S Woodward, Mikhail V. Zubkov, and Dave J. Scanlan. 2007. "Basin-Scale Distribution Patterns of Picocyanobacterial Lineages in the Atlantic Ocean." *Environmental Microbiology* 9 (5). Blackwell Publishing Ltd: 1278–90. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01246.x.

Zwirglmaier, Katrin, Ludwig Jardillier, Martin Ostrowski, Sophie Mazard, Laurence Garczarek, Daniel Vaulot, Fabrice Not, Ramon Massana, Osvaldo Ulloa, and Dave J. Scanlan. 2008. "Global Phylogeography of Marine Synechococcus and Prochlorococcus Reveals a Distinct Partitioning of Lineages among Oceanic Biomes." *Environmental Microbiology* 10 (1): 147–61. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01440.x.

Annexes



Roscoff, le vieux port.

Annexe 1| Pittera *et al.* 2018

Annexe 2| Protocole de préparation du milieu de culture PCR-S11 (M. Ratin, comm. pers.)

Solutions à prévoir :

Hepes-NaOH 1M ajusté à pH 7,5
Na_2-EDTA / $FeCl_3$
Tampon phosphate 50 mM pH 7.5
$(NH_4)_2$-SO_4 , 400 mM
$NaNO_3$ (85 gr/m, 1M)
Gaffron + Se
Vitamine B12 10 mg / L

Matériel à prévoir :

Filtre et porte filtre autoclavé

Equipements à réserver :

Hotte

Protocole :

Peser 333,3g de Red Sea Salt et compléter à 10L avec de l'eau milliQ.
Autoclaver.
Laisser refroidir .
Ajouter les solutions d'enrichissement préalablement autoclavées (à l'exception du Na2-EDTA/FeCl3) et les vitamines .
Filtrer sur système Millipore (avec filtre 0.22 µm) préalablement stérilisé à l'autoclave.

Tableau 11| Volumes de solutions stocks à inoculer dans la préparation du milieu PCR-S11

Quantité	Solution stock	Conc. Finale
10 mL	Hepes-NaOH 1M ajusté à pH 7.5	1 mM
10 mL	Na_2-EDTA / $FeCl_3$	2 µM
10 mL	Tampon phosphate 50 mM pH 7.5	50 µM
10 mL	$(NH_4)_2$-SO_4 , 400 mM	400 µM
10 mL	$NaNO_3$ (85 gr/m, 1M)	1 mM
1 mL	Trâce-métaux : Gaffron + Se	1/10e
1 mL	Vitamine B12 10 mg / L	1 µg / L

→ Préparation de la solution de Na_2-EDTA / $FeCL_3$:

$FeCl_3,6H_2O$ 1.080 g dans 40 mL d'HCl (0.1N)

Na_2-EDTA 1.488 g dans 40 mL de NaOH (0.1N)

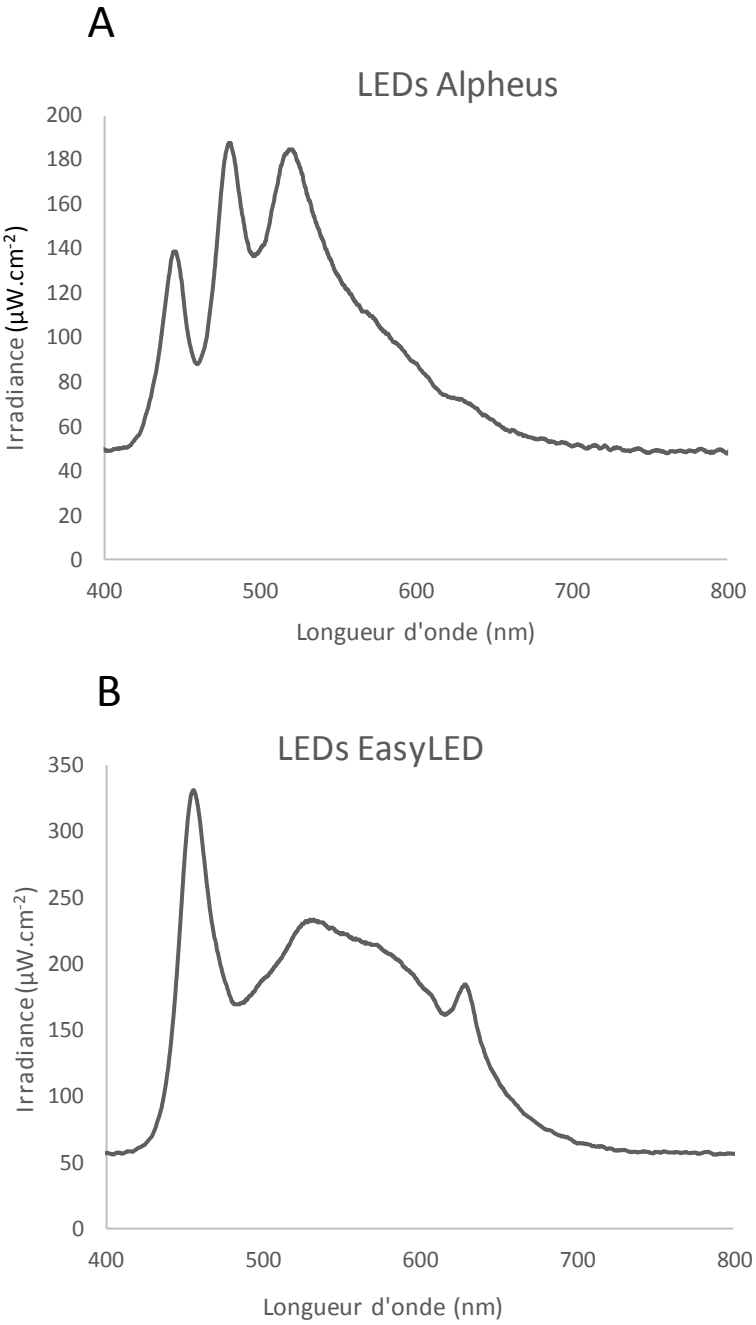
Chaque produit est dissout séparément puis sont ensuite mélangés (qsp 2L). La solution est ensuite filtrée et conservée à 4°C.

→ Préparation de la solution Trace-métaux ; Gaffron + Se

Tableau 12| Concentration des différents produits entrant dans la composition de la solution de Gaffron + Se

Gaffron+Se	Référence Merck.	Quantité / l (mg)	Conc. finale(nM)
H_3BO_3	165	168	150
$MnSO_4,H_2O$	596	101	30
$Na_2WO_4,2H_20$	6673	1,98	0,3
$(NH_4)6MO_7O_{24},4H_2O$	1182	5,16	1,45
KBr	4905	7,14	3
KI	5043	4,98	1,5
$ZnSO_4,7H_2O$	8883	17,25	3
$Cd(NO_3)_2,4H_2O$	2019	9,25	1,5
$Co(NO_3)_2,6H_2O$	2554	8,76	1,5
$CuSO_4,5H_2O$	2790	7,5	1,5
$NiCl_2,6H_2O$	6717	7,1	1,5
$Cr(NO_3)_3,9H_2O$	2481	2,4	0,3
$VOSO_4,5H_2O$	8503	1,5	0,3
$KAl(SO_4)_2,12H_2O$	1047	28,4	3
SeO_2	800653	3,3	1,5

Annexe 3| Spectres d'émission des rampes de LEDs utilisées. (A) Spectre d'émission des rampes de LEDs Alpheus, pour une intensité lumineuse de 20 µmol photons m^{-2} s^{-1} et **(B)** Spectre des rampes de LEDs EasyLEDs, pour une intensité lumineuse de 80 µmol photons m^{-2} s^{-1}, mesurés au spectroradiomètre muni d'une sonde unidirectionnelle (USB 2000, Ocean Optics) piloté par le logiiel Ocean Optics/OOIIrrad-C Software for color and radiometric Color (BETA).



Annexe 4| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. MVIR-18-1 acclimaté entre 10 et 25°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

			Growth temperature (°C)					
			10	**14**	**16**	**18**	**22**	**25**
MGDG	***sn*-1**	**14:0**	1.9 ± 0.03	1.4 ± 0.02	1.31 ± 0.06	8.27 ± 7.68	4.15 ± 2.15	4.68 ± 2.17
		14:1	25.94 ± 0.68	10.93 ± 0.10	10.53 ± 0.53	3.91 ± 2.61	4.92 ± 0.11	2.13 ± 1.76
		16:0	5.29 ± 0.04	9.47 ± 0.48	9.47 ± 0.14	16.85 ± 5.58	15.40 ± 0.43	20.67 ± 3.64
		16:1	65.49 ± 0.67	77.97 ± 0.39	78.60 ± 0.63	71.10 ± 10.70	75.54 ± 2.24	72.72 ± 4.18
		16:2	1.37 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	***sn*-2**	**14:0**	67.91 ± 0.08	91.50 ± 0.36	88.76 ± 0.26	97.70 ± 1.54	96.44 ± 0.35	98.27 ± 2.82
		14:1	32.18 ± 0.08	8.57 ± 0.36	11.37 ± 0.26	2.31 ± 1.54	3.66 ± 0.35	1.82 ± 2.82
DGDG	***sn*-1**	**14:0**	3.11 ± 0.15	2.42 ± 0.08	6.09 ± 0.40	5.82 ± 1.28	6.44 ± 1.40	7.55 ± 2.23
		14:1	18.74 ± 0.89	10.23 ± 0.10	3.35 ± 0.31	3.80 ± 1.63	2.42 ± 1.61	0.59 ± 1.18
		16:0	11.43 ± 0.47	11.51 ± 0.48	23.23 ± 0.51	25.24 ± 3.44	33.14 ± 4.08	47.83 ± 10.07
		16:1	66.05 ± 0.34	75.76 ± 0.53	66.93 ± 1.26	65.15 ± 3.35	58.00 ± 4.51	44.03 ± 11.25
		16:2	0.67 ± 0.05	0.09 ± 0.10	0.40 ± 0.34	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	***sn*-2**	**14:0**	72.44 ± 0.41	89.26 ± 0.15	91.26 ± 0.35	99.66 ± 0.40	98.96 ± 1.63	99.70 ± 0.60
		14:1	27.56 ± 0.41	10.74 ± 0.15	8.74 ± 0.35	0.34 ± 0.40	1.04 ± 1.63	0.30 ± 0.60
SQDG	***sn*-1**	**14:0**	1.07 ± 0.09	2.82 ± 0.08	2.55 ± 0.15	2.98 ± 0.34	3.06 ± 0.36	2.12 ± 0.28
		14:1	1.90 ± 0.20	1.06 ± 0.05	0.84 ± 0.09	0.28 ± 0.08	0.29 ± 0.05	0.04 ± 0.08
		16:0	22.54 ± 0.25	29.62 ± 0.34	29.51 ± 0.21	47.59 ± 1.66	48.11 ± 3.25	64.85 ± 5.17
		16:1	73.65 ± 0.41	65.21 ± 0.17	65.43 ± 0.63	34.67 ± 6.28	40.96 ± 6.72	23.17 ± 10.41
		18:1	0.47 ± 0.08	0.65 ± 0.05	0.80 ± 0.04	1.75 ± 0.31	1.73 ± 0.18	1.49 ± 0.26
		18:2	0.37 ± 0.12	0.64 ± 0.06	0.87 ± 0.33	12.73 ± 4.18	5.86 ± 3.14	8.33 ± 5.40
	***sn*-2**	**14:0**	66.36 ± 0.39	54.58 ± 0.74	65.61 ± 0.83	54.29 ± 1.71	53.48 ± 0.84	53.52 ± 0.42
		14:1	8.01 ± 0.33	2.64 ± 0.17	1.54 ± 0.04	0.40 ± 0.09	0.48 ± 0.11	0.06 ± 0.13
		16:0	17.81 ± 0.17	27.07 ± 0.44	21.74 ± 0.49	33.12 ± 0.57	36.01 ± 0.37	39.02 ± 1.19
		16:1	7.83 ± 0.09	15.71 ± 0.24	11.12 ± 0.38	12.19 ± 1.43	10.03 ± 0.71	7.40 ± 1.62
PG	***sn*-1**	**16:0**	1.23 ± 0.88	1.25 ± 0.78	1.15 ± 0.60	1.15 ± 0.60	1.69 ± 0.00	2.74 ± 2.45
		16:1	69.83 ± 17.49	68.08 ± 18.17	65.67 ± 21.79	71.92 ± 15.77	73.92 ± 0.00	75.99 ± 7.08
		16:2	1.04 ± 1.02	0.90 ± 0.98	0.82 ± 1.00	0.89 ± 0.96	0.34 ± 0.00	0.42 ± 0.59
		18:0	2.29 ± 2.25	2.15 ± 1.93	2.32 ± 1.85	1.82 ± 1.52	2.46 ± 0.00	2.10 ± 1.21
		18:1	24.09 ± 15.63	25.89 ± 16.50	27.97 ± 19.47	22.54 ± 14.15	21.49 ± 0.00	17.74 ± 8.72
		18:2	1.52 ± 1.30	1.73 ± 1.23	2.07 ± 1.93	1.68 ± 1.33	0.11 ± 0.00	1.01 ± 1.42
	***sn*-2**	**16:0**	12.86 ± 0.25	17.89 ± 0.14	22.34 ± 1.86	31.92 ± 4.76	35.64 ± 3.93	50.14 ± 16.25
		16:1	80.70 ± 0.68	67.32 ± 1.48	56.32 ± 4.59	63.45 ± 4.58	52.61 ± 6.40	46.64 ± 13.32
		18:0	1.60 ± 0.17	4.63 ± 0.35	6.43 ± 0.68	1.46 ± 1.19	5.93 ± 1.88	1.62 ± 1.88
		18:1	4.83 ± 0.45	10.17 ± 1.18	14.91 ± 2.28	3.17 ± 1.34	5.82 ± 0.88	1.60 ± 1.92

Annexe 5| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. A15-62 acclimaté entre 16 et 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

			Growth temperature (°C)					
			16	18	22	25	28	30
MGDG	*sn*-1	14:0	2.83 ± 0.11	2.62 ± 0.10	1.77 ± 0.05	1.75 ± 0.03	1.45 ± 0.06	1.61 ± 0.07
		14:1	30.38 ± 1.10	22.76 ± 1.92	23.25 ± 0.13	21.54 ± 0.26	11.35 ± 0.82	8.22 ± 0.19
		16:0	4.27 ± 0.18	5.25 ± 0.43	4.15 ± 0.13	3.25 ± 0.11	5.43 ± 0.26	7.11 ± 0.14
		16:1	56.13 ± 0.90	64.97 ± 2.04	62.73 ± 0.23	59.02 ± 0.22	74.29 ± 1.20	78.93 ± 0.38
		16:2	6.40 ± 0.09	4.39 ± 0.65	8.10 ± 0.32	14.44 ± 0.24	7.48 ± 0.61	4.13 ± 0.07
	sn-2	14:0	72.92 ± 0.88	77.66 ± 1.74	68.66 ± 0.67	55.51 ± 0.41	69.93 ± 1.51	77.97 ± 0.26
		14:1	27.08 ± 0.88	22.34 ± 1.74	31.34 ± 0.67	44.49 ± 0.41	30.07 ± 1.51	22.03 ± 0.26
DGDG	*sn*-1	14:0	6.13 ± 0.29	5.12 ± 0.10	4.91 ± 0.13	4.98 ± 0.04	4.95 ± 0.22	5.33 ± 0.24
		14:1	17.41 ± 0.95	13.29 ± 1.24	10.10 ± 0.35	7.91 ± 0.21	4.62 ± 0.30	3.62 ± 0.18
		16:0	24.47 ± 1.47	30.64 ± 0.97	36.98 ± 0.78	37.31 ± 0.42	47.92 ± 1.61	54.19 ± 0.90
		16:1	49.44 ± 0.66	48.95 ± 0.62	45.03 ± 0.51	44.81 ± 0.26	40.44 ± 1.24	35.97 ± 0.52
		16:2	2.56 ± 0.16	2.00 ± 0.22	2.98 ± 0.04	4.99 ± 0.15	2.06 ± 0.14	0.89 ± 0.11
	sn-2	14:0	80.68 ± 1.08	85.29 ± 1.04	83.51 ± 0.28	78.12 ± 0.31	87.28 ± 0.88	92.11 ± 0.43
		14:1	19.38 ± 1.08	14.71 ± 1.04	16.49 ± 0.28	21.88 ± 0.31	12.72 ± 0.88	7.89 ± 0.43
SQDG	*sn*-1	14:0	3.34 ± 0.25	2.55 ± 0.17	2.70 ± 0.32	3.06 ± 0.13	2.68 ± 0.17	2.42 ± 0.07
		14:1	2.25 ± 0.16	1.43 ± 0.13	1.02 ± 0.03	0.85 ± 0.07	0.49 ± 0.05	0.28 ± 0.02
		16:0	34.26 ± 0.38	35.73 ± 0.94	37.04 ± 0.32	38.43 ± 0.58	49.02 ± 0.96	58.64 ± 0.42
		16:1	58.34 ± 0.30	59.05 ± 1.08	56.96 ± 0.69	55.20 ± 0.70	45.62 ± 0.94	37.57 ± 0.53
		18:1	1.09 ± 0.12	0.67 ± 0.12	1.27 ± 0.31	1.16 ± 0.11	1.10 ± 0.04	0.63 ± 0.04
		18:2	0.72 ± 0.03	0.58 ± 0.08	1.01 ± 0.09	1.31 ± 0.09	1.09 ± 0.07	0.46 ± 0.04
	sn-2	14:0	50.71 ± 0.97	48.69 ± 1.59	39.64 ± 0.51	36.98 ± 0.77	50.22 ± 1.19	61.88 ± 0.50
		14:1	6.47 ± 0.27	5.67 ± 0.27	5.05 ± 0.20	8.82 ± 0.32	4.79 ± 0.25	2.79 ± 0.11
		16:0	33.42 ± 1.21	36.59 ± 1.71	43.99 ± 0.83	39.59 ± 0.86	36.75 ± 0.72	31.29 ± 0.66
		16:1	9.40 ± 0.08	9.05 ± 0.11	11.32 ± 0.21	14.60 ± 0.28	8.24 ± 0.58	4.03 ± 0.07
PG	*sn*-1	16:0	0.80 ± 0.34	0.86 ± 0.14	0.82 ± 0.11	0.95 ± 0.23	1.60 ± 0.47	1.02 ± 0.23
		16:1	74.38 ± 12.57	74.07 ± 7.08	75.78 ± 6.05	75.93 ± 4.95	74.32 ± 4.76	73.70 ± 2.79
		16:2	8.15 ± 5.63	7.48 ± 4.47	7.20 ± 2.43	7.08 ± 0.66	7.78 ± 1.73	7.96 ± 1.65
		18:0	1.14 ± 0.83	1.10 ± 0.54	1.01 ± 0.54	1.12 ± 0.01	0.65 ± 0.09	1.10 ± 0.10
		18:1	14.22 ± 15.17	15.08 ± 8.98	13.94 ± 6.90	13.82 ± 3.64	14.43 ± 4.74	15.09 ± 3.83
		18:2	1.33 ± 1.85	1.40 ± 1.25	1.25 ± 1.03	1.11 ± 0.43	1.22 ± 0.66	1.12 ± 0.75
	sn-2	16:0	14.95 ± 0.54	13.22 ± 0.62	15.59 ± 0.33	16.66 ± 0.70	25.03 ± 3.37	26.48 ± 0.74
		16:1	65.12 ± 3.77	73.92 ± 1.87	78.58 ± 0.21	77.99 ± 1.13	65.94 ± 3.97	65.32 ± 0.89
		18:0	3.20 ± 0.56	2.08 ± 0.21	2.08 ± 0.06	1.19 ± 0.13	1.94 ± 0.19	1.80 ± 0.10
		18:1	16.74 ± 2.80	10.79 ± 1.22	4.68 ± 0.37	4.16 ± 0.43	7.10 ± 0.71	6.40 ± 0.41

Annexe 6| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. WH8102 acclimaté entre 16 et 30°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

			Growth temperature (°C)					
			16	**18**	**22**	**25**	**28**	**30**
MGDG	***sn*-1**	**14:0**	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.27 ± 0.89
		14:1	0.30 ± 0.59	3.21 ± 0.16	7.03 ± 0.62	1.54 ± 2.15	5.50 ± 0.12	12.88 ± 0.22
		16:0	6.94 ± 0.54	10.85 ± 0.30	14.07 ± 0.38	15.64 ± 0.26	15.96 ± 0.16	13.42 ± 0.21
		16:1	58.82 ± 0.68	67.32 ± 0.63	74.76 ± 0.31	77.18 ± 2.42	78.54 ± 0.19	70.94 ± 0.97
		16:2	33.94 ± 1.77	18.62 ± 0.52	4.14 ± 0.10	5.64 ± 1.70	0.0 ± 0.0	1.48 ± 1.11
	***sn*-2**	**14:0**	35.99 ± 2.16	56.79 ± 0.78	78.60 ± 0.56	82.64 ± 1.63	89.30 ± 0.21	81.38 ± 1.56
		14:1	64.01 ± 2.16	43.21 ± 0.78	21.40 ± 0.56	17.36 ± 1.63	10.70 ± 0.21	18.62 ± 1.56
DGDG	***sn*-1**	**14:0**	0.0 ± 0.0	0.43 ± 0.56	3.11 ± 0.22	2.96 ± 0.31	3.10 ± 0.07	6.62 ± 0.30
		14:1	0.0 ± 0.0	0.81 ± 1.02	3.52 ± 0.12	2.49 ± 0.39	4.09 ± 0.09	4.79 ± 0.55
		16:0	33.49 ± 0.15	38.56 ± 1.68	34.75 ± 0.84	43.99 ± 1.42	32.17 ± 0.16	35.52 ± 3.28
		16:1	57.15 ± 0.24	55.22 ± 0.55	56.75 ± 0.69	50.56 ± 1.21	60.64 ± 0.13	53.07 ± 3.05
		16:2	9.36 ± 0.30	4.96 ± 0.47	1.87 ± 0.14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	***sn*-2**	**14:0**	69.55 ± 0.26	78.88 ± 0.98	84.60 ± 0.62	92.39 ± 0.53	90.81 ± 0.13	91.02 ± 0.82
		14:1	30.45 ± 0.26	21.12 ± 0.98	15.40 ± 0.62	9.19 ± 0.53	9.19 ± 0.13	8.98 ± 0.82
SQDG	***sn*-1**	**14:0**	0.34 ± 0.01	0.52 ± 0.02	1.05 ± 0.14	0.81 ± 0.03	1.15 ± 0.25	3.24 ± 0.40
		14:1	0.09 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.31 ± 0.06	0.20 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.69 ± 0.09
		16:0	35.54 ± 0.78	43.60 ± 1.35	47.93 ± 2.19	55.70 ± 0.76	56.57 ± 0.27	54.13 ± 0.69
		16:1	54.65 ± 0.22	52.65 ± 1.46	49.82 ± 2.13	41.74 ± 0.78	41.19 ± 0.18	41.11 ± 0.65
		18:1	3.33 ± 0.21	1.49 ± 0.11	0.52 ± 0.05	0.86 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.58 ± 0.06
		18:2	6.05 ± 0.61	1.60 ± 0.04	0.37 ± 0.05	0.69 ± 0.09	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.06
	***sn*-2**	**14:0**	29.33 ± 1.70	45.14 ± 0.29	63.01 ± 1.87	57.42 ± 0.86	65.62 ± 0.90	65.84 ± 1.46
		14:1	7.56 ± 0.10	5.72 ± 0.41	2.47 ± 0.06	0.84 ± 0.08	0.72 ± 0.03	1.56 ± 0.09
		16:0	45.76 ± 0.80	40.32 ± 1.04	30.79 ± 1.71	38.84 ± 0.90	31.18 ± 0.81	19.32 ± 1.23
		16:1	17.35 ± 0.97	8.81 ± 0.50	3.73 ± 0.16	2.90 ± 0.11	2.48 ± 0.10	3.29 ± 0.31
PG	***sn*-1**	**16:0**	0.21 ± 0.24	0.09 ± 0.19	0.60 ± 0.49	0.60 ± 0.00	1.35 ± 0.15	1.73 ± 0.15
		16:1	86.11 ± 1.22	95.18 ± 0.11	96.18 ± 1.03	95.90 ± 0.61	94.90 ± 0.43	92.84 ± 0.37
		16:2	9.58 ± 0.97	4.72 ± 0.30	3.22 ± 0.59	4.10 ± 0.61	3.61 ± 0.13	5.12 ± 0.17
		18:1	4.10 ± 0.99	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.14 ± 0.17	0.30 ± 0.23
	***sn*-2**	**16:0**	22.11 ± 0.31	22.11 ± 0.31	21.74 ± 0.43	19.98 ± 0.19	21.36 ± 0.32	22.07 ± 0.19
		16:1	77.89 ± 1.14	77.89 ± 0.31	78.26 ± 0.43	80.02 ± 0.19	78.64 ± 0.32	77.93 ± 0.19

Annexe 7| Variations relatives (%) des espèces de chaînes d'acides gras aux positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol, du monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalacosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG) et phosphatidylglycérol, pour *Synechococcus* sp. BL107 acclimaté entre 14 et 28°C. Les mesures ont été répétées trois à quatre fois.

			Growth temperature (°C)					
			14	16	18	22	25	28
MGDG	*sn*-1	14:0	1.49 ± 0.11	1.47 ± 0.17	3.04 ± 0.62	2.80 ± 0.09	7.20 ± 0.33	3.73 ± 0.27
		14:1	9.18 ± 0.13	8.54 ± 0.10	7.17 ± 0.17	9.41 ± 1.25	7.84 ± 0.29	8.58 ± 0.32
		16:0	5.63 ± 0.12	6.01 ± 0.15	8.23 ± 0.18	8.49 ± 1.24	1.63 ± 0.45	9.18 ± 0.17
		16:1	83.28 ± 0.32	83.71 ± 0.37	80.07 ± 0.78	79.07 ± 0.34	70.92 ± 0.52	78.23 ± 0.65
		16:2	0.41 ± 0.01	0.27 ± 0.02	1.49 ± 0.04	0.22 ± 0.03	2.40 ± 0.54	0.26 ± 0.24
	sn-2	14:0	71.29 ± 0.17	74.34 ± 0.68	82.99 ± 0.61	88.83 ± 1.46	92.90 ± 0.83	94.64 ± 0.14
		14:1	28.71 ± 0.17	25.66 ± 0.68	17.01 ± 0.61	11.17 ± 1.46	7.10 ± 0.83	5.36 ± 0.14
DGDG	*sn*-1	14:0	2.35 ± 0.23	2.10 ± 0.07	3.90 ± 0.31	3.97 ± 0.26	8.24 ± 0.33	4.72 ± 0.23
		14:1	8.40 ± 0.20	8.46 ± 0.10	6.13 ± 0.17	7.43 ± 1.39	6.23 ± 0.36	8.64 ± 0.29
		16:0	19.12 ± 1.22	17.77 ± 0.14	37.15 ± 1.27	30.90 ± 1.99	45.56 ± 1.49	23.70 ± 1.61
		16:1	69.92 ± 1.33	71.52 ± 0.11	52.59 ± 1.11	57.51 ± 0.89	39.91 ± 1.45	62.76 ± 1.58
		16:2	0.21 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.19 ± 0.02	0.06 ± 0.11	0.10 ± 0.04
	sn-2	14:0	78.87 ± 0.23	81.67 ± 0.22	91.72 ± 0.80	91.96 ± 0.49	97.66 ± 0.30	94.61 ± 0.51
		14:1	20.13 ± 0.23	18.33 ± 0.22	8.28 ± 0.80	2.34 ± 0.49	2.34 ± 0.30	5.39 ± 0.51
SQDG	*sn*-1	14:0	0.82 ± 0.16	1.08 ± 0.14	1.30 ± 0.10	1.46 ± 0.30	1.81 ± 0.30	1.60 ± 0.19
		14:1	0.36 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.38 ± 0.06	0.45 ± 0.11	0.35 ± 0.12	0.40 ± 0.08
		16:0	22.86 ± 0.57	24.78 ± 0.67	26.71 ± 0.60	32.77 ± 1.47	32.53 ± 0.46	40.34 ± 1.57
		16:1	74.82 ± 0.83	72.55 ± 0.97	68.00 ± 0.83	63.46 ± 1.45	56.29 ± 2.53	56.15 ± 1.54
		18:1	0.72 ± 0.06	0.65 ± 0.05	0.98 ± 0.04	1.13 ± 0.32	1.44 ± 0.19	0.89 ± 0.03
		18:2	0.61 ± 0.08	0.58 ± 0.11	2.63 ± 0.24	0.73 ± 0.28	7.58 ± 2.22	0.62 ± 0.25
	sn-2	14:0	50.89 ± 0.81	51.89 ± 0.65	53.10 ± 1.11	53.75 ± 3.13	56.04 ± 1.37	60.28 ± 0.83
		14:1	5.66 ± 0.07	5.37 ± 0.30	3.85 ± 0.21	2.42 ± 0.14	1.41 ± 0.06	1.51 ± 0.11
		16:0	27.62 ± 0.40	28.75 ± 0.87	30.61 ± 1.02	33.56 ± 0.96	33.31 ± 0.65	32.59 ± 1.06
		16:1	15.80 ± 0.49	13.99 ± 0.25	12.44 ± 0.52	10.27 ± 2.10	9.24 ± 0.94	5.62 ± 0.31
PG	*sn*-1	16:0	1.15 ± 0.74	1.04 ± 0.53	1.02 ± 0.56	1.11 ± 0.44	1.95 ± 0.62	1.00 ± 1.08
		16:1	84.58 ± 5.25	84.52 ± 5.89	86.11 ± 4.39	84.18 ± 2.06	75.65 ± 1.75	79.60 ± 4.38
		16:2	0.96 ± 0.06	0.92 ± 0.11	0.82 ± 0.18	0.93 ± 0.33	0.52 ± 0.07	0.90 ± 0.09
		18:0	1.00 ± 0.80	0.91 ± 0.77	0.77 ± 0.52	0.88 ± 0.54	1.06 ± 0.08	1.00 ± 0.17
		18:1	11.63 ± 3.95	11.61 ± 4.42	10.59 ± 3.52	12.12 ± 2.99	19.35 ± 1.15	16.50 ± 2.73
		18:2	0.67 ± 0.17	0.60 ± 0.06	0.69 ± 0.22	0.78 ± 0.39	1.46 ± 0.16	0.99 ± 0.49
	sn-2	16:0	15.43 ± 0.52	20.24 ± 0.93	16.88 ± 0.37	20.33 ± 1.86	27.71 ± 1.57	27.34 ± 2.26
		16:1	80.59 ± 0.91	73.21 ± 0.96	79.89 ± 0.74	73.44 ± 2.41	69.44 ± 1.86	67.58 ± 2.55
		18:0	0.63 ± 0.08	1.08 ± 0.04	0.55 ± 0.15	1.16 ± 0.09	0.76 ± 0.04	1.15 ± 0.15
		18:1	3.36 ± 0.35	5.47 ± 0.18	2.68 ± 0.47	5.06 ± 0.50	2.08 ± 0.26	3.93 ± 0.19

Annexe 8| Détail du projet METALIC

Durant ma thèse, j'ai initié une étude de thermophysiologie comparée de 8 souches appartenant aux clades I et IV. Cette étude est réalisée dans le cadre du projet *EC2CO Microbien* METALIC (METAbolisme LIpidique et écologique des Cyanobactéries marines : comprendre l'adaptation au gradient latitudinal de température) dont les objectifs sont d'évaluer la thermoadaptabilité des *Synechococcus* marins à leur limite de distribution latitudinale.

La zone Manche-Mer du Nord offre un terrain idéal pour une telle étude. En particulier, La campagne MICROVIR, qui s'y est déroulée en Juillet 2007, réunit toutes les caractéristiques qui permettent un travail de thermophysiologie comparée : elle comprend 23 stations de prélèvements s'étalant de la Manche Occidentale (latitude 48.8°) au sud de la Mer de Norvège (latitude 61.3°, Figure 89) et a permis d'isoler 107 souches de *Synechococcus*, qui sont cryopréservées dans la Collection de Cultures de Roscoff.

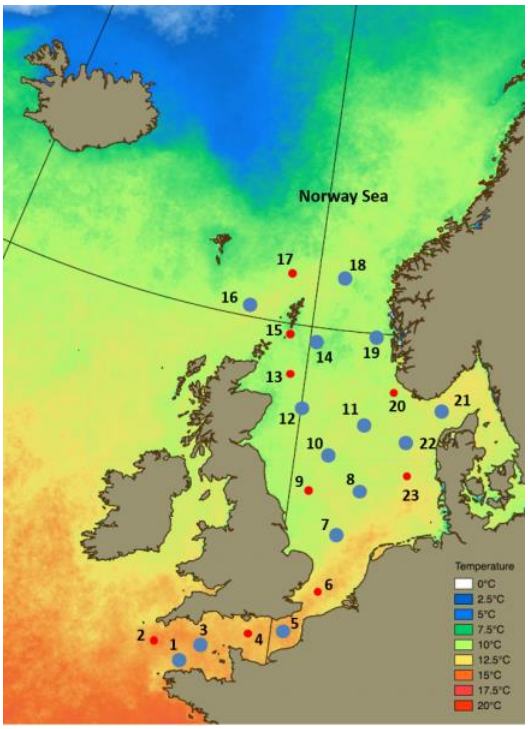


Figure 89| Répartition des stations de prélèvements de la campagne MICROVIR, et cartographie de la température moyenne de l'eau à ces dates.

Six souches de *Synechococcus* marins appartenant aux clades I et IV et isolées le long du gradient latitudinal du système Manche-Mer du Nord au cours de la campagne océanographique MICROVIR, ont été sélectionnées (Figure 86). Deux souches isolées au plus bas de ce gradient, deux souches isolées au milieu et deux souches isolées aux plus hautes latitudes : *Synechococcus* spp. MVIR-1-1, MICROVIR-3CR-0, MICROVIR-6CR-3, MVIR-11-1, MVIR-16-1, MVIR-16-2. Les souches

MVIR-18-1 et ROS8604 du clade I ont été ajoutées à la sélection comme point de comparaison par rapport à l'étude de Pittera *et al.* (2014). Certaines informations concernant ces souches sont répertoriées dans le (Tableau 13).

Tableau 13| Position phylogénétique, site d'isolement et température moyenne de l'eau de mer au site d'isolement pour les huit souches de *Synechococcus* utilisées dans cette étude. Les données de température sont des moyennes mesurées sur la période 2000-2010, provenant du site de la National Oceanic and Atmospheric Administration. Les souches sont ordonnées par latitude d'isolement croissante.

Souche	Numéro RCC	Clade	Site d'isolement	Coordonnées d'isolement	Température au site d'isolement (°C)	Type pigmentaire
ROS8604	2380	I	Manche	48°43', 3°58'	13,20 ± 0,30	3a
MVIR-1-1	1708	I	Manche	48°46', 3°55'	13,6 ± 0,26	3a
MICROVIR-3CR_0	1580	IV	Manche	49°11', 3°11'	13,2 ± 0,29	3a
MICROVIR-6CR_3	1694	I	Mer du Nord	56°35', 3°35'	10,72 ± 0,4	3a
MVIR-11-1	1695	IV	Mer du Nord	56°55', 3°58'	10,69 ± 0,29	3a
MVIR-16-1	2570	IV	Mer du Nord	60°19', 3°28'	10,23 ± 0,24	3d
MVIR-16-2	3010	I	Mer du Nord	60°19', 3°28'	10,23 ± 0,24	3a
MVIR-18-1	2385	I	Mer du Nord	61°00', 1°35'	10,42 ± 0,34	3a

La plupart de ces souches étaient maintenues en cryopréservation et ont été lentement décongelées et réadaptées à la croissance en milieu liquide. Les 8 souches ont été cultivées dans du milieu de culture PCR-S11 (Annexe 2 ; Rippka *et al.* 2000) stérile supplémenté de 1 mM de nitrate de sodium, sous une lumière continue fournies par des rampes de LEDs multicolores (EasyLED, spectre en Annexe 3) délivrant une lumière blanche continue de 80 µmol photons m^{-2} s^{-1}. Les cultures ont été acclimatées durant plusieurs semaines sur une gamme de températures allant de 8 à 26°C dans des incubateurs à température contrôlée (Lovibond, Liebherr-Hausgeräte, GmbH). Les *preferenda* thermiques de chaque souche ont été établis avec la même procédure décrite précédemment. Pour les 8 souches, des cultures de 1,5 litres en tripliquats, acclimatées à 3 températures différentes : 14°C, 20°C et 24°C, ont été récoltées au milieu de leur phase exponentielle de croissance. Plusieurs prélèvements sont en cours afin de i) déterminer la densité cellulaire par cytométrie en flux, ii) enregistrer des spectres de spectrofluorimétrie, des courbes de réponse à la lumière et des inductions d'extinction de fluorescence par fluorimétrie PAM, iii) doser les pigments membranaires et iv) analyser le lipidome membranaire.

Les résultats de *preferenda* thermiques sont représentés en Figure 90. D'un point de vue global, les souches, qu'elles soient du clade I ou IV ne présentent pas de différences de *preferenda*

thermiques marqués. Toutes les souches ont montré une croissance marquée de 8/10°C à 26°C, avec une croissance optimale entre 23°C et 25°C. Le *preferenda* thermique de croissance de la souche MVIR-18-1 présente sensiblement les mêmes caractéristiques que celles décrites dans Pittera et collaborateurs (2014), mais étonnamment, la souche ROS8604 a une gamme de température de croissance décalée dans le froid par rapport à cette étude. Ces résultats sont encore à affiner et confirmer par d'autres mesures.

Ces organismes, bien qu'ayant la capacité à pousser sur des gammes de température plus froides que des clades isolés à des températures plus basses, confirment qu'ils ne sont pas psychrophiles, mais plutôt psychrotolérants, comme pour l'étude du Chapitre 2. Cette incapacité à pousser au deçà de 7°C pourrait révéler une fragilité de l'appareil photosynthétique, ce qui sera étudié plus avant dans la suite du projet. La comparaison de courbes Transfert d'électrons *vs.* Lumière (courbes P-E) et des capacités de photoprotection (NPQ) à différentes températures permettront d'étudier les différentes capacités d'utilisation de la lumière de ces souches. L'analyse des contenus pigmentaires, en parallèle du dosage des complexes photosynthétiques, pourra nous permettre d'étayer certaines hypothèses concernant le rôle de photoprotection des carotènes et de réorganisation de l'appareil photosynthétique en fonction de la température. Les résultats de lipidomique permettront peut-être également de comprendre de façon plus fine les stratégies de thermorégulation du contenu lipidique membranaire chez ces deux clades. Les données pour ces souches de contenu pigmentaires, lipidiques et de photophysiologie sont en cours d'acquisition, mais nous espérons que les résultats de thermophysiologie comparée des clades I et IV nous permettront de mieux comprendre les processus de co-évolution qui ont permis aux *Synechococcus* marins des clades I et IV de conquérir les eaux tempérées-froides à subpolaires des océans.

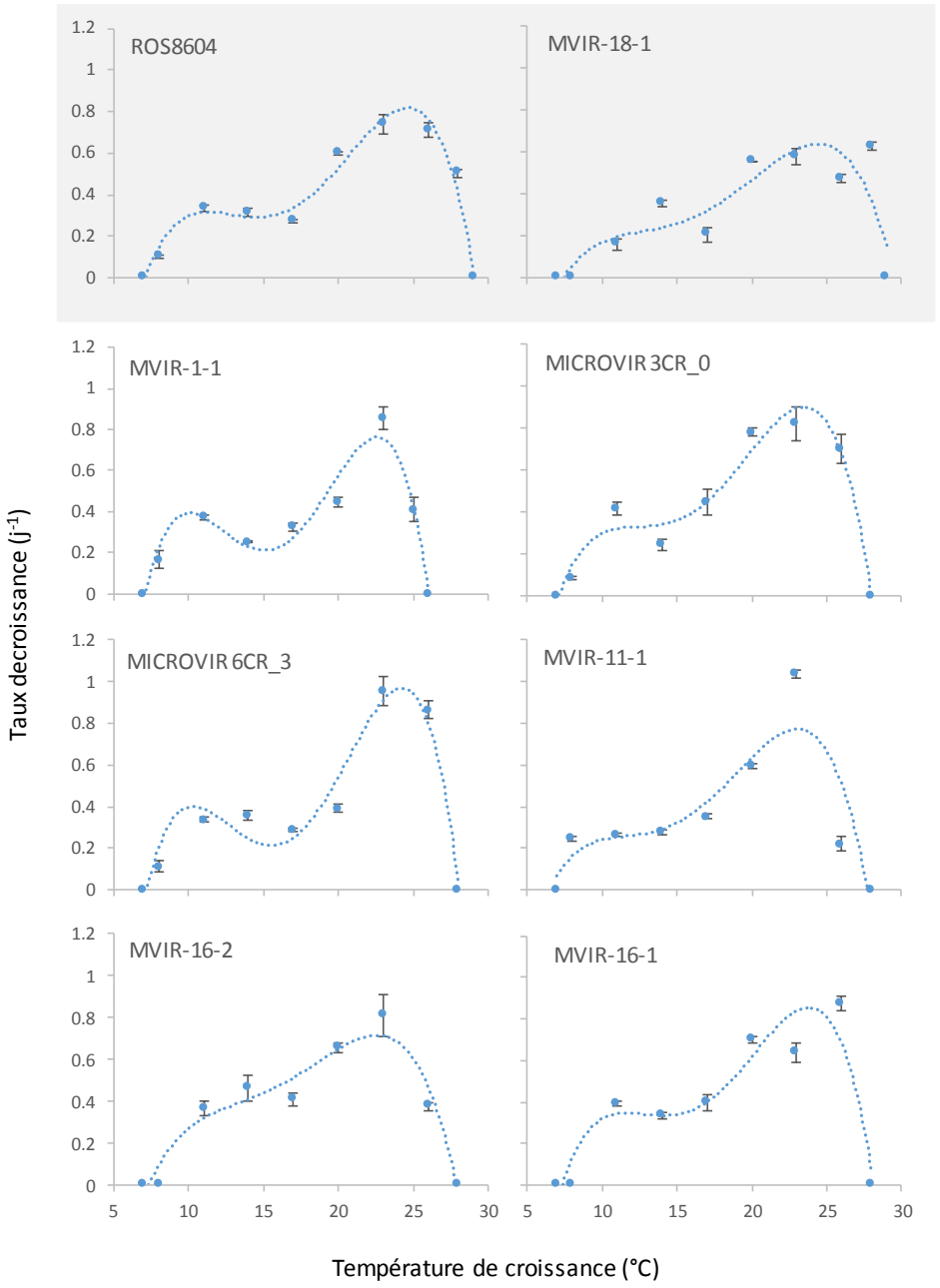


Figure 90| Variations des taux de croissance pour les huit souches de *Synechococcus* marins ROS8604, MVIR-18-1 (les deux souches référencées), MVIR-1-1, MICROVIR 6CR_3, MVIR-16-1 (appartenant au clade I) et MICROVIR 3CR_0, MVIR-11-1 et MVIR-16-1 (appartenant au clade IV).