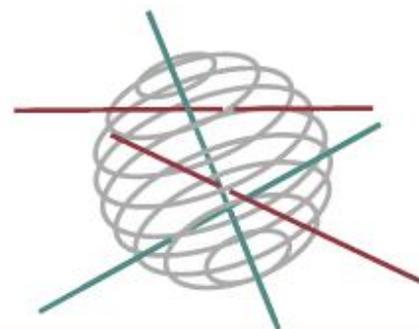


SSD

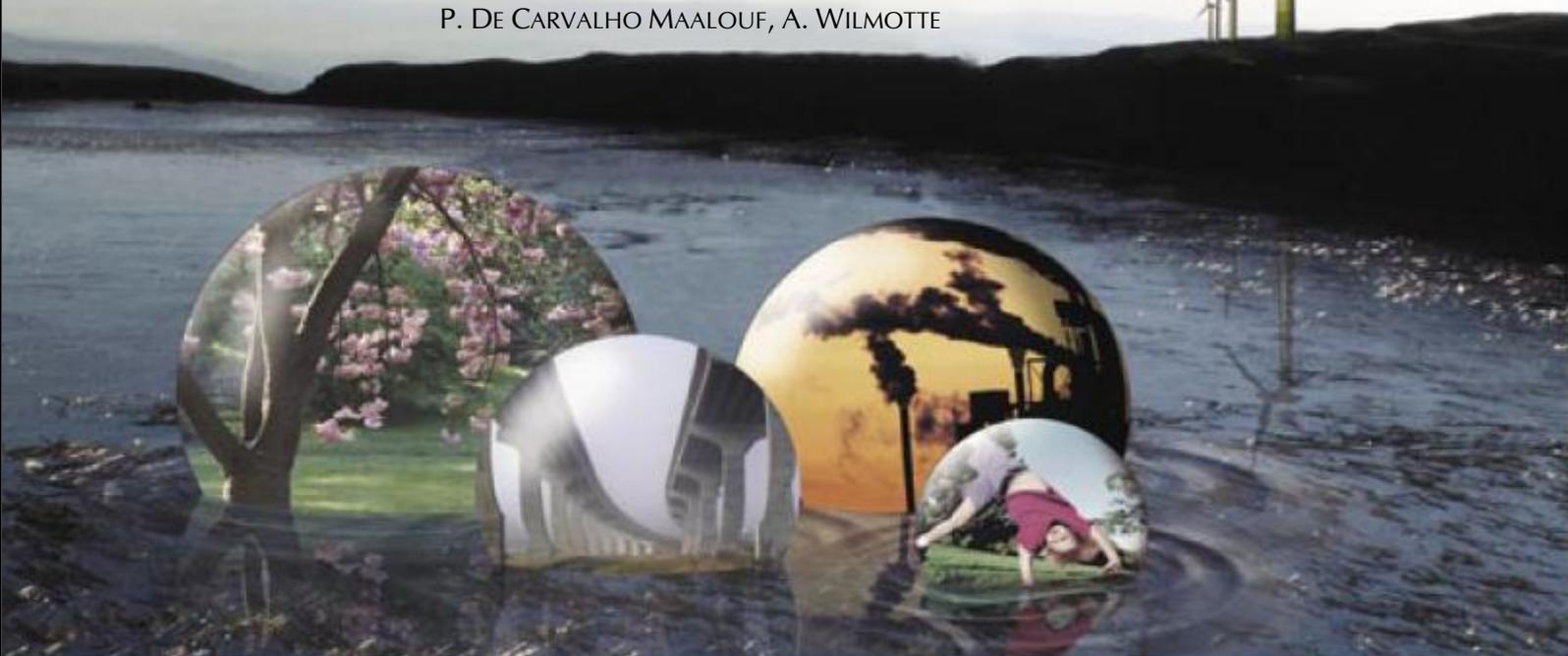
SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT



**BIODIVERSITE MICROBIENNE ANTARCTIQUE:
L'IMPORTANCE DES FACTEURS GEOGRAPHIQUES ET
ECOLOGIQUES**

“AMBIO”

A. WILLEMS, K. PEETERS, A. DE WEVER, E. VERLEYEN, S. BOITSIOS,
S. D'HONDT, K. SABBE, W. VYVERMAN,
P. DE CARVALHO MAALOUF, A. WILMOTTE



ENERGY 

TRANSPORT AND MOBILITY 

AGRO-FOOD 

HEALTH AND ENVIRONMENT 

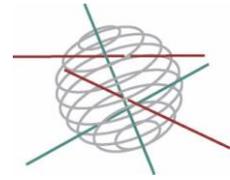
CLIMATE 

BIODIVERSITY 

ATMOSPHERE AND TERRESTRIAL AND MARINE ECOSYSTEMS 

TRANSVERSAL ACTIONS 

SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT
(SSD)



Biodiversité

	RAPPORT FINAL PHASE 1 RESUME	
BIODIVERSITE MICROBIENNE ANTARCTIQUE:		
L'IMPORTANCE DES FACTEURS GEOGRAPHIQUES ET ECOLOGIQUES		
“AMBIO”		
SD/BA/01A		

Promoteurs

Annick Wilmotte

University of Liège, Institute of Chemistry, Centre for Protein Engineering
(C, CIP)

Wim Vyverman

University of Ghent, Department of Biology, Research group of
Protistology and Aquatic Ecology (PAE)

Anne Willems

University of Ghent, Laboratory of Biochemistry & Microbiology,
Laboratory of Microbiology (LM-UGent)

Auteurs

Anne Willems & Karolien Peeters (LM – UGent)

Aaike De Wever, Elie Verleyen, Sophie Boitsios, Sofie D'Hondt,

Koen Sabbe & Wim Vyverman (PAE – UGent)

Pedro De Carvalho Maalouf & Annick Wilmotte (Cyanobacteria group, ULg)

Mars 2009





Avenue Louise 231
Louizalaan 231
B-1050 Bruxelles
Belgique
Tel: +32 (0)2 238 34 11 – Fax: +32 (0)2 230 59 12
<http://www.belspo.be>

Contact person: Maaïke Vancauwenberghe
+32 (0)2 238 36 78

Project Website: www.ambio.ulg.ac.be

Neither the Belgian Science Policy nor any person acting on behalf of the Belgian Science Policy is responsible for the use which might be made of the following information. The authors are responsible for the content.

No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without indicating the reference :

A. Willems, K. Peeters, A. De Wever, E. Verleyen, S. Boitsios, S. D'hondt, K. Sabbe, W. Vyverman, P. De Carvalho Maalouf, A. Wilmotte. ***Biodiversité microbienne antarctique: l'importance des facteurs géographiques et écologiques "AMBIO"***. Rapport Final Phase 1 Résumé. Bruxelles : Politique scientifique fédérale 2009 – 5 p. (Programme de recherche la science pour un Développement Durable).

Les écosystèmes situés à des latitudes élevées sont particulièrement sensibles au changement climatique (ex. Quayle et al. 2002) et aux activités humaines directes (pollution, détérioration physique, introduction d'espèces étrangères – Robinson et al. 2003). Les organismes microbiens dominent la plupart des écosystèmes antarctiques (en ce compris les lacs côtiers et intérieurs, les courants de neige fondue, les cryoconites, etc.) et jouent un rôle crucial dans leur fonctionnement. Ils constituent la base du réseau alimentaire, sont les principaux acteurs des cycles biogéochimiques et régulent la bioérosion (Vincent, 1988 ; Friedmann, 1993). Plus encore, leurs fossiles se maintiennent et des marqueurs biogéochimiques offrent un témoignage tangible des évolutions environnementales antérieures (Verleyen et al. 2004 a,b ; Hodgson et al. 2005 a,b). Mais comparativement à la diversité microbienne que l'on observe en milieu tempéré et tropical et malgré son importance écologique, on ne sait que peu de choses concernant la diversité microbienne en Antarctique et sa distribution géographique (Sabbe et al. 2003 ; Ellis-Evans, 1996 ; Gibson et al., 2006 ; Taton et al. 2006a ; Stackebrandt et al. 2004 ; Hughes et al. 2004).

Plusieurs causes sont à l'origine de cette situation, particulièrement l'absence d'échantillonnage systématique et de couverture géographique, ainsi que les problèmes liés à la définition des espèces, ainsi qu'à la diversité et à la cultivabilité cryptique (Sabbe et al., 2003 ; Taton et al. 2003, Van Trappen et al., 2002 ; Gibson et al, en cours d'impression).

Il en résulte que nous souffrons d'un déficit de données fondamentales nécessaires à la compréhension des différents processus responsables des modèles géographiques en termes de diversité et de composition microbienne et à l'observation des évolutions futures potentielles sur les plans de la diversité microbienne et de la composition taxonomique en raison du changement de l'écosystème et/ou d'introductions humaines (Cowan & Tow 2004).

Une grande partie des études portant sur la diversité réalisées dans le passé l'ont été suivant des méthodes traditionnelles telles que l'isolation de souches bactériennes et les identifications au microscope de cyanobactéries et de protistes sur la base de caractéristiques morphologiques et de l'établissement de correspondances « forcées » entre des taxons de milieu tempérés et leurs homologues antarctiques. Ce dernier biais générerait une impression de cosmopolitisme concernant ces groupes taxonomiques. Depuis le milieu des années 1980, l'utilisation des marqueurs taxonomiques moléculaires a augmenté dans le domaine de la caractérisation des souches mais aussi pour ce qui est de mettre en évidence de manière directe la diversité microbienne dans des échantillons environnementaux. Ces derniers, qui reposent pour une grande part sur le séquençage d'opéron d'ARN ribosomal (SSU rRNA généralement, mais l'espaceur interne transcrit entre les gènes rRNA SSU et LSU a également été mis à contribution plus récemment) ont offert une vue quelque peu différente de la diversité et de l'existence de génotypes non encore cultivés. Contrairement aux marqueurs phénotypiques, les marqueurs génotypiques sont comparables et stables en conditions environnementales changeantes, et ils restituent l'historique d'évolution des organismes. Ils possèdent également un potentiel considérable sur le plan de l'étude de la distribution géographique des microorganismes (Amann, 1995 ; Loisel et al. 2006). Il a été démontré que les méthodes moléculaires peuvent parfois induire des biais (ex. Speksnijder et al., 2001).

Il est dès lors important de combiner les études basées sur les cultures avec diverses analyses moléculaires des communautés. L'Antarctique est un lieu de tout premier choix pour étudier la biogéographie microbienne et mettre en évidence les rôles respectifs de processus historiques et de conditions environnementales actuelles agencant la diversité microbienne et la structure communautaire, en raison de son isolement extrême par rapport au reste du monde lié à sa position géographique et à la nature des courants océaniques et atmosphériques, ainsi qu'à l'éparpillement des oasis terrestres le long des côtes du continent.

En outre, les organismes qui peuplent le continent doivent survivre dans un contexte environnemental extrême, caractérisé par une extrême variabilité des températures, des conditions d'ensoleillement ultravariabiles, des charges en UV-B saisonnières très élevées et une faible humidité. Par conséquent, comme ensemble, le continent est soumis à d'importants gradients environnementaux générateurs de contraintes accrues sur la biodiversité et les structures des communautés (Lawley et al. 2004, Gibson et al. 2006). De plus, certains habitats offrent une certaine protection en raison des conditions extrêmes (par exemple, l'eau liquide dans les environnements aquatiques, qui peut faire office « d'amortisseur thermique » (Gibson et al. 2006).

Par ailleurs, des premières données concernant la diversité des aérosols dans la péninsule antarctique ont mis en évidence les potentialités de transport à grande échelle de la diversité microbienne, bien qu'une bonne part de l'aérobiote découvert fût d'origine locale (Hughes et al. 2004). Dans le présent projet, notre objectif consiste à augmenter le volume d'informations fondamentales en matière de diversité microbienne au moyen d'une analyse intégrée et normalisée de la diversité microbienne des habitats aquatiques dans des environnements antarctiques terrestres. Nous avons recours à une approche en plusieurs phases associant caractérisation morphologique par microscopie et techniques moléculaires en vue de mettre en évidence la diversité des bactéries (en accordant une attention toute particulière aux protéobactéries et au *bacteroidetes*), des cyanobactéries et des protistes (en accordant une attention spécifique aux algues vertes et aux diatomées), qui ont été identifiés comme taxons cibles intéressants lors de nos études antérieures.

Travailler sur des échantillons environnementaux et sur des souches isolées en culture nous permet de mettre la diversité en évidence. Une fois les échantillons clichés sur divers types de médias, l'observation des souches bactériennes isolées a permis de découvrir différentes caractéristiques de croissance. Des organismes halophiles ont été isolés à partir des échantillons TM2 et LA3, ce qui concorde avec la nature saline des lacs d'origine. D'autres organismes présentent un aspect oligotrophe ou nécessitent des médias de composition nutritive spécifique pour croître. Un groupage par rep-PBR a mis en évidence plus de clusters 700 'rep' mais très peu contenaient des isolats provenant du même échantillon.

Cet élément illustre le caractère unique de la microflore bactérienne dans chaque site. La rep-PCR étant une technique de typage très fine, elle ne permet pas de définir des espèces spécifiques à un site. Le séquençage des ARNr 16S peut offrir une réponse à cette question. Toutefois, cette technique révèle des échantillons particulièrement diversifiés (PQ1 et LA3, avec respectivement 32 % et 21 % des isolats ayant un profil rep unique, plusieurs dans les groupes, une partie des isolats affichaient des valeurs faiblement similaires avec des séquences voisines observées dans la base de données EMBL). Cet élément met en relief la présence potentielle de nouveaux taxons, particulièrement du phylum *Bacteroidetes*.

De nouveaux représentants potentiels ont également été découverts dans le phylum *Deinococci*, qui possède un nombre relativement restreint de représentants cultivés. Les résultats issus des séquençages des ARNr 16S issus de souches purement cyanobactérienne, de l'analyse DGGE ainsi que de bibliothèques de clones ont montré 23 unités OTUs, 5 d'entre elles étant endémiques pour l'Antarctique et 3 constituant une diversité potentiellement non découverte auparavant. Ces trois OTUs incluaient des séquences provenant de la Base polaire belge, des monts transantarctiques et de l'Antarctique Est, ce qui suggère la présence d'un flux de microorganismes entre ces régions. D'autre part, le lac dit de Florida (salinité élevée, forte évaporation) et de Lundström (faible salinité), tous deux situés dans la région des monts transantarctiques et séparés par une chaîne de montagnes ne partagent qu'une seule OTU cosmopolite (OTU44). Cette disparité en termes de composition cyanobactérienne peut être associée aux caractéristiques chimiques différentes des lacs mais aussi, éventuellement, à des obstacles à la dissémination.

Une analyse des correspondances de type *Detrended* (DCA) a été réalisée sur des données issues de bibliothèques de clones provenant de 20 échantillons provenant de l'Antarctique Est, des monts transantarctiques ainsi que de la péninsule antarctique et a révélé que la composition des OTU est géographiquement structurée selon chaque région, qui possède une flore plus ou moins unique. Les différences géographiques observées peuvent être dues à plusieurs causes sous-jacentes, comme des caractéristiques de limnologie différentes entre régions, tout comme elles peuvent résulter d'une limitation de la dispersion parmi les cyanobactéries. On peut également relever que les échantillons salins sont groupés.

Enfin, les présentes données provenant des monts transantarctiques, de l'île West Ongul et de la Base polaire belge montrent une diversité appauvrie du nombre d'OTUs par rapport aux lacs côtiers des collines Larsemann, Vestfold et du lac Fryxell (DV) étudiés par Taton *et al.* (2003, 2006a). La diversité élevée des isolats d'algues vertes suggère que ce groupe a colonisé fructueusement le continent antarctique. Deux taxons (II11, VI11) ont été détectés dans la plupart des régions, ce qui suggère qu'ils étaient amplement diffusés sur le continent antarctique. Des données plus détaillées (séquences ITS) seront nécessaires pour caractériser ces taxons au niveau des espèces. La plupart des taxons étudiés (10 sur 14) n'ont été découverts que dans une seule région non glacée, ce qui suggère que la diversité microalgologique de l'Antarctique demeure inconnue.

L'étude des séquences antarctiques met en évidence une flore antarctique unique. Cela suggère des taux élevés d'endémisme par rapport aux résultats des travaux morphologiques pratiqués sur des algues terrestres (Broady *et al.* 1996). Comme pour nos études phylogénétiques, et ce en travaillant avec une fourchette de 700 à 1200 millions d'années, nous estimons que les taxons antarctiques ont été isolés il y a de 5 à 566 millions d'années d'ici. Les résultats de la DGGE n'étant pas encore totalement connus, les conclusions qui font suite doivent être considérées comme provisoires. S'agissant des bactéries, les résultats semblent mettre en avant une importance réduite des variables géographiques, ce qui peut être lié à la résolution limitée de la technique visant à mettre au jour des structures modèles dans la composition de la communauté bactérienne. Pour ce qui est des cyanobactéries, divers schémas de distribution s'observent mais des données supplémentaires sont nécessaires pour affiner l'analyse.