

Approches multidisciplinaires pour identifier les facteurs de stress dans les milieux estuariens (Projets HQFish - SA6 & POPEST - OFB)

Jean LAROCHE, Jennifer LAURENT, Vianney PICHEREAU, Grégory CHARRIER, Edouard LAVERGNE, Sébastien ARTIGAUD

LEMAR UMR 6539: Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, Institut Universitaire Européen de la Mer, Plouzané

Stéphane LE FLOCH Cedre, Brest

Iwan LE BERRE

LETG UMR 6554: Littoral, Environnement, Géomatique, Télédétection, IUEM, Plouzané



Plan de l'exposé

Terminologie: stress, stress, réponse au stress, chez un poisson modèle estuarien (le flet)

Ecologie du stress en milieux estuariens (grands estuaires vs petits estuaires)

Biosurveillance active & passive en Seine (projet HQFish - SA6)

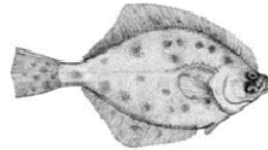
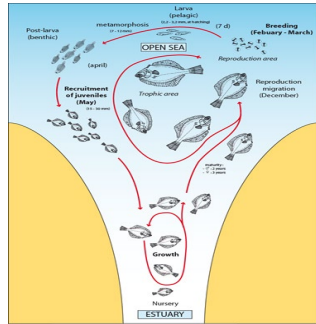
Biosurveillance passive en petits estuaires (projet POPEST - OFB)

Synthèse sur les approches multidisciplinaires estuariennes, pour la production d'outils de gestion environnementale



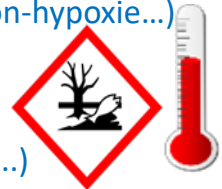
Terminologie: stress, stress, réponse au stress, chez un poisson modèle estuarien (le flet)

- **Flet (*Platichthys flesus*)** : espèce sentinelle d'intérêt majeur, étudiée en Europe, pour faire le lien entre l'état de santé des poissons et l'état de santé des écosystèmes estuariens



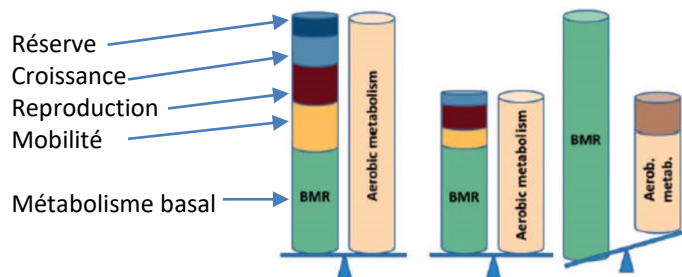
Durée de vie strictement estuarienne: au moins 2 ans de l'oligohalin au polyhalin
Poisson très bon enregistreur de la qualité des masses d'eau estuariennes

- **Stresseur**: un facteur environnemental (polluants aquatiques, réchauffement des eaux côtières, eutrophisation-hypoxie...) qui conduit chez l'individu exposé à une altération de sa physiologie et à une baisse de sa fitness



- **Stress**: statut interne du flet altéré par les stressors chimiques (stéatose du foie, amaigrissement, pathologie..)

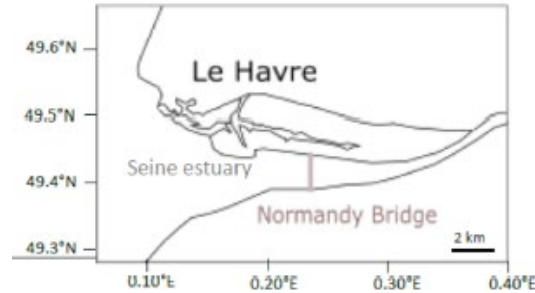
- **Réponse au stress**: cascade de modifications déclenchées chez le flet par le stress à différents niveaux



Niveau de stress:

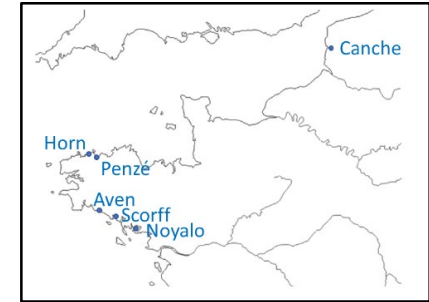
Ecologie du stress en milieux estuariens (grands estuaires vs petits estuaires)

La Seine, un exemple de grand estuaire (HQFish - SA6)



Bassin versant
= 80.000 km²

Six petits estuaires (POPEST - OFB)



100 km² < Bassins < 1400 km²
versants

Stresseurs Endogènes

Anthropisation sur le bassin versant	massive: agriculture, urbanisation, industrie	agriculture dominante
Qualité des eaux	mauvaise	parfois médiocre
Cocktail polluant	très complexe	moins complexe
Eutrophisation-hypoxie	risque	risque

Altérations anthropiques directes sur les habitats estuariens (remodelage des côtes, dragages, digues, perte d'habitats intertidaux, modifications hydrauliques)	très marquées	peu marquées
Altérations des paramètres hydro-morpho-sédimentaires	qualité trophique souvent altérée	qualité trophique peu altérée

Stresseurs Exogènes

changements climatiques : altérations possibles des débits, des régimes de température et salinité	à prendre en compte	à prendre en compte
--	---------------------	---------------------

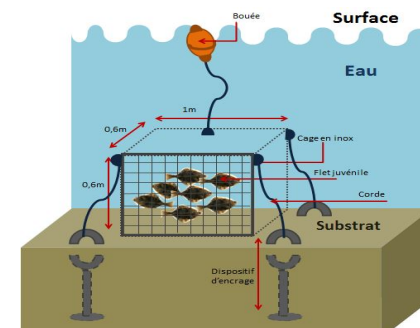
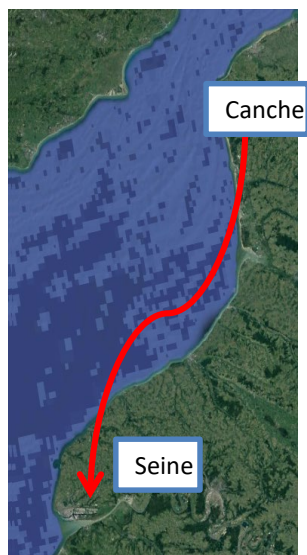
Priorités en grands estuaires: reconquête d'habitats altérés, restauration de la continuité écologique (connectivité latérale et longitudinale), et amélioration de la qualité des eaux

Priorité en petits estuaires: restauration de la qualité des eaux dans les bassins versants

& Gestion des impacts du changement climatique ?

Biosurveillance active en Seine (projet HQFish) (caging de flets - chimie des contaminants - protéomique)

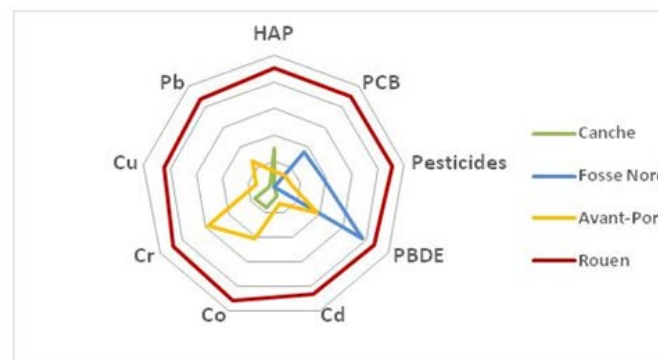
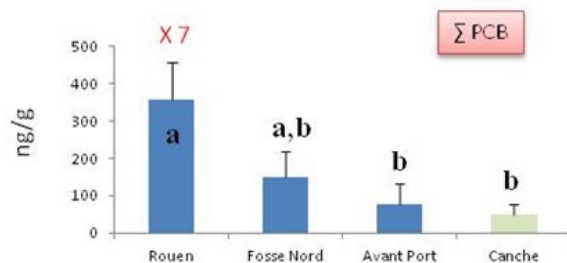
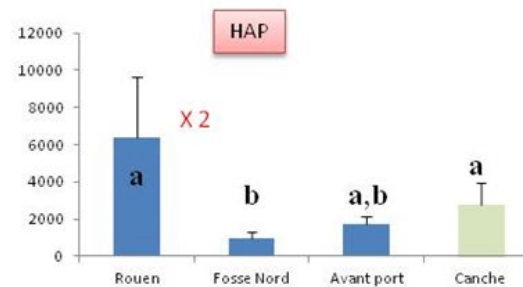
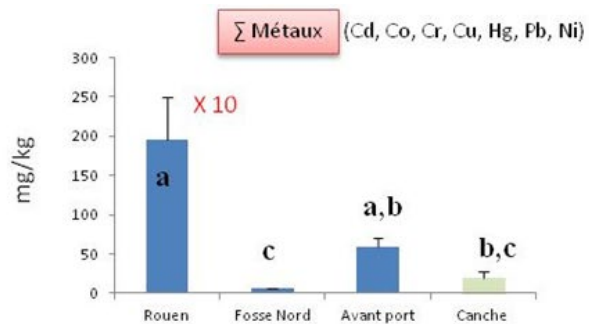
1) Septembre 2017: Transferts de juvéniles de flets capturés en Canche, vers 5 sites d'encagement (durée d'encagement : un mois)



1 site d'encagement « témoin »: Canche

4 sites d'encagement en « milieux stressés » Seine: Rouen, Fosse Nord, Fosse Sud, Avant-port du Havre

2) Septembre 2017: prélèvements de sédiments sur les sites d'encagement, puis analyses de leurs contaminants chimiques



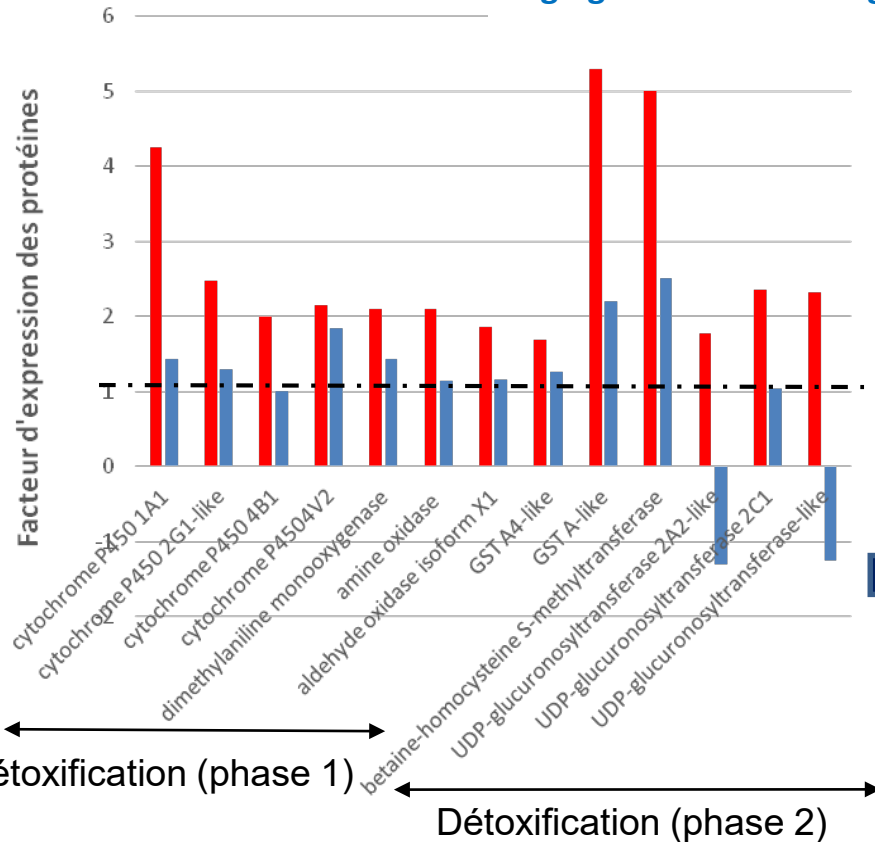
Contaminations métalliques et organiques significativement plus élevées en Seine vs Canche

Gradient de contamination globalement décroissant, de l'amont à l'aval de la Seine (Rouen - Fosse Nord)

3) Octobre 2017 : sacrifice des poissons engagés, puis développement d'une approche en protéomique sur le foie de flet*

3500 protéines identifiées et quantifiées par condition

Facteur de surexpression (+) ou sous-expression (-) des protéines
caging Rouen (Petit Couronne) vs caging Canche
caging Fosse Nord vs caging Canche



Surproduction de protéines impliquées dans la détoxification, bien marquée à Rouen et de moindre intensité en Fosse Nord

↓

Pertinence de l'approche en protéomique pour l'évaluation écotoxicologique des milieux estuariens, à l'échelle du micro-habitat

* Borcier et al. (2019) Science of the Total Environment. 695: 133760

**4) 26 Septembre 2019 : incendie LUBRIZOL (Rouen - Bassin aux bois)
13 Novembre 2019 : nouvelle expérience de caging de flets sur un mois (Rouen - Petit Couronne vs Canche),
suivie par une analyse protéomique sur le foie des flets**



Signatures protéomiques sur le foie : Petit Couronne vs Canche (30 jours)

38 protéines sous-exprimées

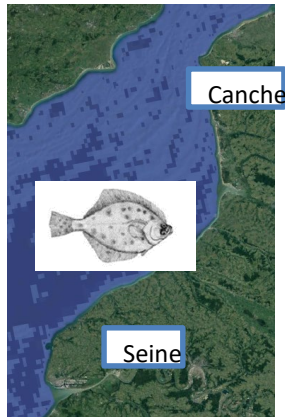
75 protéines sur-exprimées

**synthèse du cholestérol
synthèse de certains acides aminés
voie des pentoses phosphates**

**absence d'activités de détoxifications remarquables à Petit Couronne vs Canche
(P450, GST, BHMT)**

Hypothèse sur l'impact possible de l'incendie LUBRIZOL sur le poisson

- Impact des polyfluoralkylés (PFAS utilisés dans les mousses anti-incendies, modifiant le métabolisme des lipides) ?**
- PFAS plus hydrosolubles que les autres familles de contaminants organohalogénés (PCB & HBCDD)**
- PFAS impact toxicologique probablement très différent relativement aux métabolites des HAP et aux PCB**
- Investigations complémentaires nécessaires sur les niveaux de PFAS dans le sédiment et le biote à Petit Couronne, pré et post incendie LUBRIZOL**



Flets adultes (2-3 ans, en Seine vs Canche)



Contamination chimique du flet moins marquée en Seine relativement aux années 2000; reste très significative

- Seine: signatures POP et métaux
- Canche: signatures métalliques

Statut physiologique du flet en Seine: stressé

- Certains marqueurs de fitness non affectés en Seine vs Canche (indice de condition, croissance,..)
- Réponses au stress chimique significatives en Seine vs Canche (neurotoxicité, stress oxydant, histopathologie)
- Réponses au stress chimique très marquées en Seine vs Baie de Douarnenez*



Impact du réchauffement climatique (hivers plus doux)

Décalage de la maturation sexuelle

- Disparition du pic de reproduction en Février
- Etalement de la ponte de Février à Mai-Juin
- Baisse probable du succès reproducteur

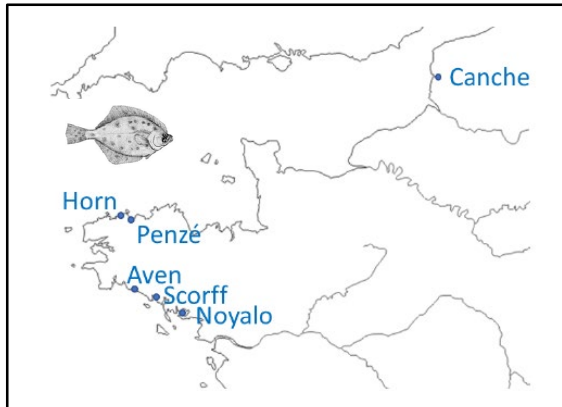
Etat actuel et futur de la population de flet en Seine

- Approche en génétique: pas de goulot d'étranglement démographique récent
- Adaptation locale au stress chimique présentant un coût physiologique (tolérance thermique réduite lors d'une expérimentation en « jardin commun »**)
- Risque écologique face au multistress chimique et thermique

Biosurveillance passive en petits estuaires (projet POPEST)

Objectifs: qualifier l'état écologique de petits systèmes estuariens par une approche multidisciplinaire

- **Biologie du flet: réponses moléculaires (approches omiques), signatures environnementales, traits de vie**
- **Hydrobiologie : évolution des paramètres hydrobiologiques sur 20 ans**
- **Chimie des contaminants**
- **Géographie des bassins versants: quantification du niveau d'anthropisation**



Etat écologique a priori des estuaires retenus

- **Canche: qualité correcte, malgré une contamination métallique**
- **Penzé & Horn: qualités médiocres (zones de production légumière intensive)**
- **Aven & Scorff: qualité correcte (bassins versants modérément anthropisés)**
- **Noyal : qualité médiocre (impact de la zone artisanale de Vannes)**



Evolution des paramètres hydrobiologiques sur 20 ans: mesures faites à l'exutoire des bassins versants

(données DREAL - Rennes & Agence de l'Eau Artois-Picardie)

Département	Estuaires	Températures	pH	Conductivité	Oxygène dissous	Ammonium	Nitrite	Nitrate
Pas de Calais	Canche	TP minimales hivernales plus douces > à 7- 8°C, à partir de 2007	augmentation du pH après 2007	augmentation de 100 micro-siemens/cm à partir de 2000				augmentation continue de 1978 à 2018: de 15 à 27 mg/l
Finistère	Penzé							baisse mais reste encore à 30mg/l
Finistère	Horn			baisse de 100 micro-siemens/cm à partir de 2014	concentrations variables à partir de 2016		valeurs soutenues à partir de 2009	baisse mais reste encore à 60mg/l
Finistère	Aven							en baisse depuis les années 2000
Morbihan	Scorff	TP maximales estivales plus fortes (pics à 22-23°C), à partir de 2008	forte variabilité du pH à partir de 2008		concentrations très variables à partir de 2017			
Morbihan	Noyaló					fortes valeurs à partir de 2012	fortes valeurs à partir de 2000	

Canche: altération lente (pH, conductivité, nitrate)

Penzé, Horn: réduction des apports anthropiques azotés, valeurs encore fortes sur l'Horn

Aven: signatures hydrobiologiques d'un milieu peu altéré, teneurs en azote modérées

Scorff: milieu altéré (fortes variations du pH et de l'oxygène dissous)

Noyaló: milieu altéré (ammonium et nitrite élevés)

Scorff & Noyaló : effet du réchauffement climatique à partir de 2008 (TP maximales estivales plus fortes)

Le flet: un bon enregistreur de son environnement (analyses sur carcasse, muscle et otolithe)

Valeurs fortes PAHs et PCBs
(SBSE-GC-MS/MS, CEDRE)
Noyaló



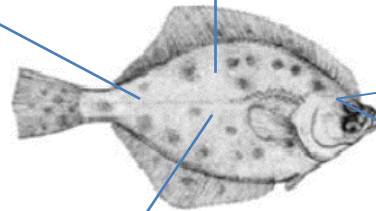
Valeurs fortes Co, Cu, Mn, Zn
(ICP-MS, IUEM)
Noyaló & Canche



Valeurs fortes Cu, Pb, Sn, Ni
(ICP-MS, IUEM)
Scorff



Stress chimique:
Noyaló - Canche - Scorff

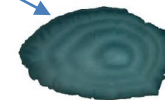


**Surcharge en azote
d'origine anthropique**
Noyaló

Isotopes stables
(IRMS, IUEM)
 $\delta^{15}\text{N}$ élevé: Noyaló



Isotopes stables
(IRMS, IUEM)
 $\delta^{13}\text{C}$ très
négatif
Noyaló & Scorff

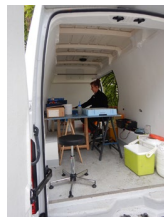


Valeurs fortes Mn, Ba
(ICP-MS, IUEM)
Noyaló & Scorff

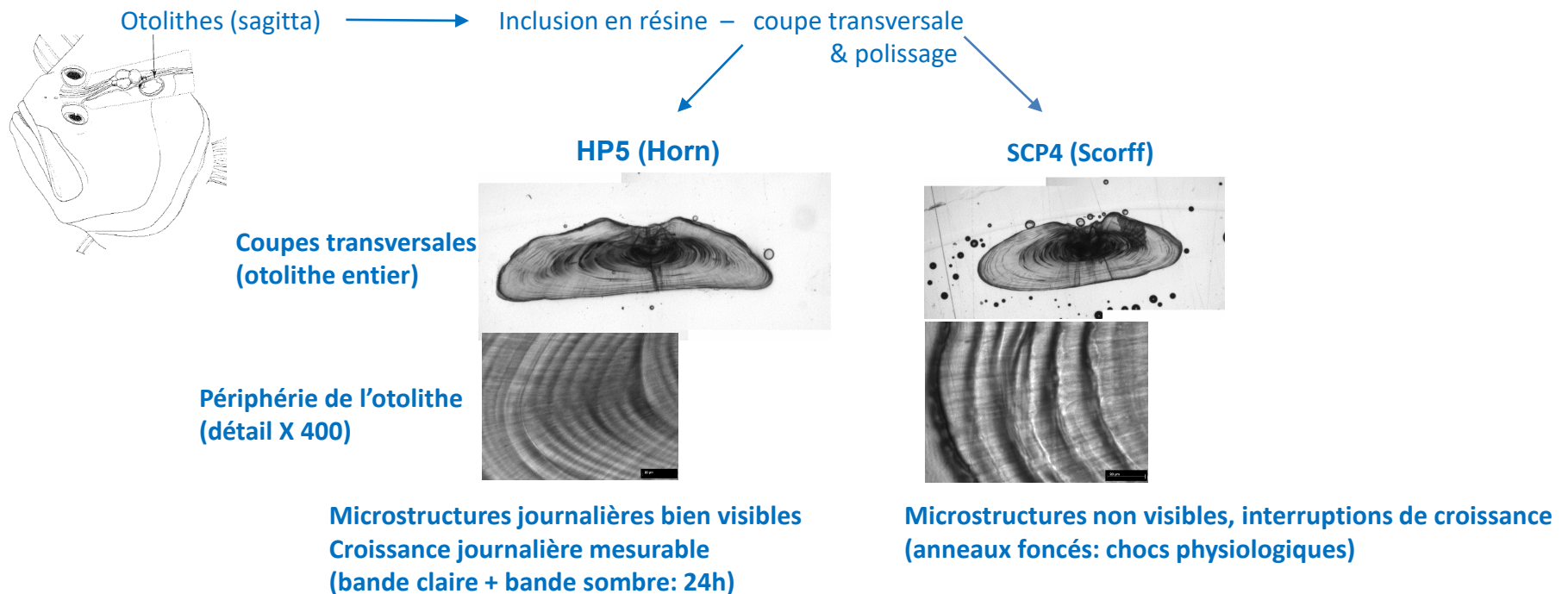


Risque hypoxique

**&
Métabolisme de
routine élevé**
Noyaló - Scorff



Le flet: la croissance moyenne journalière comme trait de vie reflétant la fitness



77%, 50%, 30% des otolithes non « lisibles » en Scorff, Noyal, Canche, sur les estuaires qui paraissent les plus altérés.

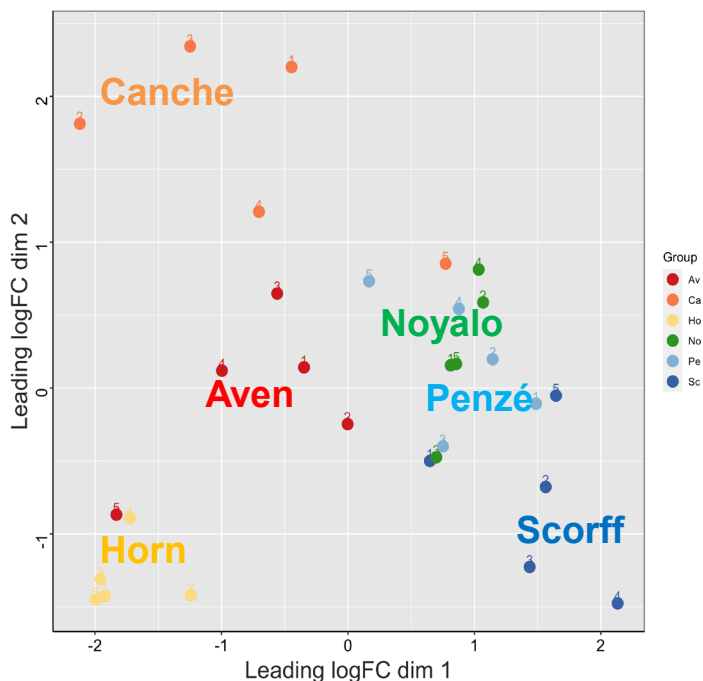
% d'otolithes non lisibles pourrait devenir un indicateur de la qualité écologique des estuaires (à confirmer).

Le flet: un poisson modèle pour la génomique environnementale

Couplage d'approches **transcriptomiques** et **protéomiques** (protéo-génomique) sur le foie
Flets prélevés dans les 6 estuaires

Assemblage du **1^{er} transcriptome de référence** pour cette espèce

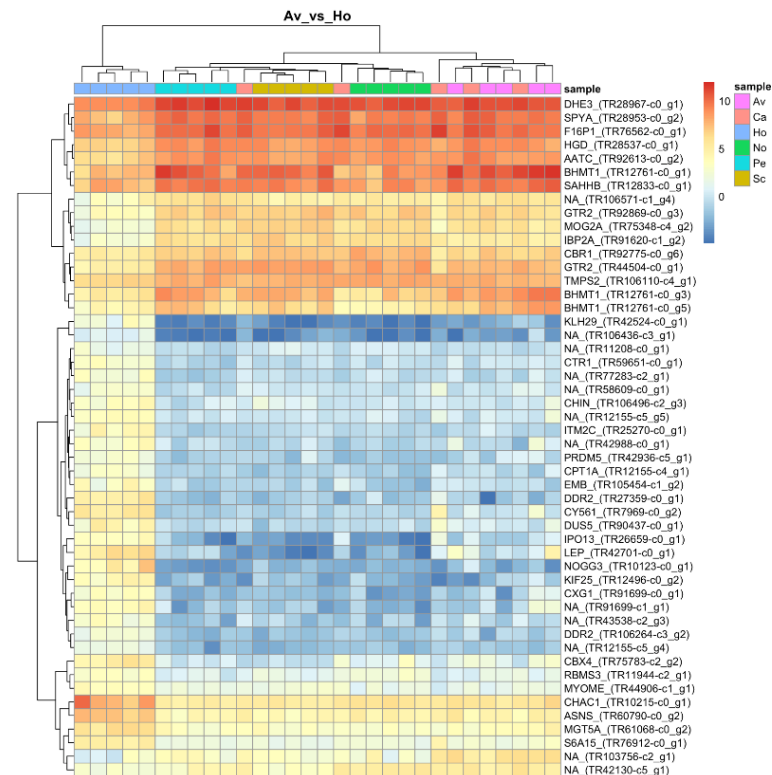
- 16000 transcrits identifiés dans tous les échantillons (30)
- Analyse différentielle et fonctionnelle



Nombre de transcrits dérégulés dans les flets issus des différents estuaires (Estuaires vs Aven)

	UP	DOWN
PENZE	89	32
HORN	143	188
SCORFF	409	348
CANCHE	44	23
NOYALO Amont	271	154

Seuils: Tfold>|1,5| ; FDR<0,05



Le flet: un poisson modèle pour la génomique environnementale

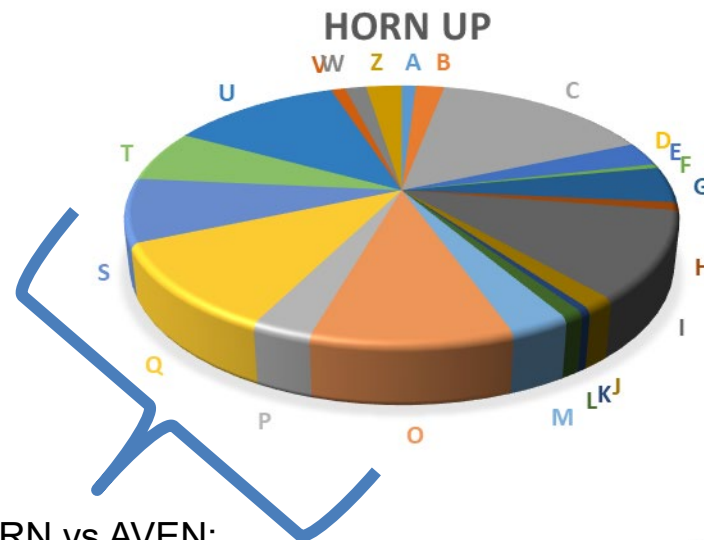
Protéomique de type 'shotgun' sur le foie de flets

- 5,3 millions spectres MS2 acquis, 21000 peptides séquencés
- 2322 protéines identifiées dans tous les échantillons (33)
- Analyse différentielle des estuaires vs Aven
 - Analyse fonctionnelle des protéines dérégulées
 - exemple : HORN vs AVEN

Nombre de protéines dérégulées dans les flets issus des différents estuaires vs Aven

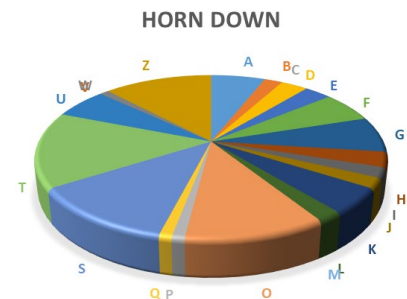
	UP	DOWN
PENZE	117	124
HORN	200	103
SCORFF	153	82
CANCHE	38	64
NOYALO Amont	312	102
NOYALO Aval	366	210

Seuils: Tfold>|1,5| ; pvalue<0,05



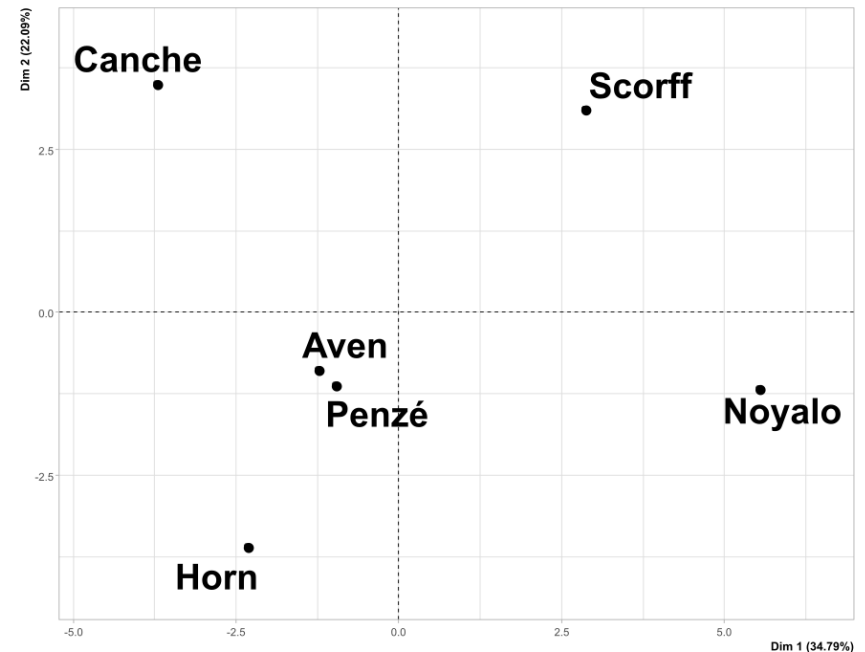
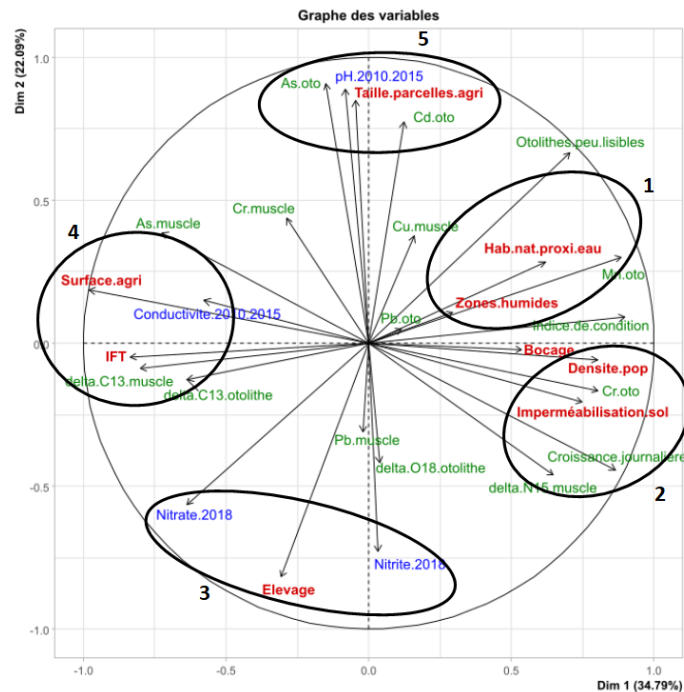
Catégories (COG) sur-représentées dans HORN vs AVEN:

- C : métabolisme énergétique (respiratoire)
- I : métabolisme lipidique (dégradation AG)
- Q: dégradation métabolites IIaires / Xénobiotiques
(incl. NADPH CytP450 reductase, et 12 CytP450...)



Intégration des données (hydrobiologie - biologie - chimie) avec des métriques géographiques

Mise en œuvre d'un SIG pour la production de métriques sur l'occupation du sol, et sur le niveau d'anthropisation des bassins versants (LETG Littoral, Environnement, Géomatique, Télédétection – UMR 6554– IUEM), puis intégration avec l'ensemble des données POPEST



Analyse en Composantes Principales: distribution des variables à gauche (variables géographiques en rouge, variables biologiques et chimiques en vert, variables hydrobiologiques en bleu); distribution des hydro-systèmes à droite.

Synthèse sur les approches multidisciplinaires estuariennes, pour la production d'outils de gestion environnementale

Grand estuaire: la Seine

Biosurveillance active

- * Encagement de poissons
- * Protéomique
- * Chimie des contaminants (sédiments)



Diagnostic sur la qualité des microhabitats estuariens

en situation de routine

en situation accidentelle

Biosurveillance passive

- * Biomarqueurs
- * Traits de vie
- * Variabilité génétique
- * Exp. Jardin Commun
- * Chimie des contaminants (poissons)

Diagnostic sur le risque écologique pour la population naturelle de poissons

Petits estuaires: Pas de Calais & Bretagne

Biosurveillance passive

- * Hydrobiologie
- * Biomarqueurs
- * Chimie des contaminants
- * Géographie des bassins
- * Approches omiques

Identification des principaux stressseurs

Identification de nouveaux marqueurs moléculaires



Diagnostic sur la qualité écologique des petits estuaires