

ECCOREV EpiBioIndic (2017-18)

EC2CO EpiEcosys (2018-20)

MOPOSys (2019-20)

Micropolluants organiques dans les herbiers de posidonie et conséquences sur le fonctionnement de l'écosystème côtier

P. Mirleau, P. Doumenq, L. Malleret

A. Chenuil, V. Dubut, E. Meglècz (IMBE) | C. Grenz, D. Malengro, N. Bhairy, J. Harmelin (MIO) | L. Vanbostal, D. Guillemain (OSU Pytheas, SC Plongée) | B. Angeletti (CEREGE) | C. Jungas (BIAM)



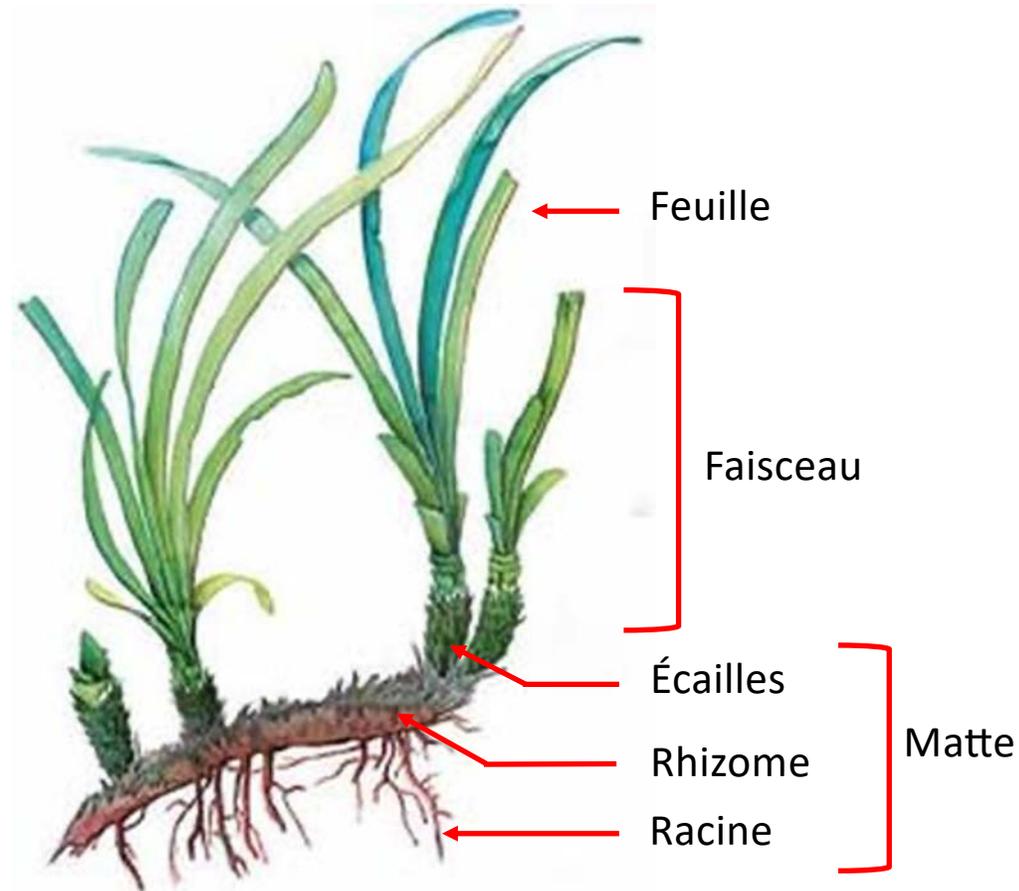
© Pascal Mirleau



© Dorian Guillemain



© Pascal Mirleau



http://www.exnovoambiente.it/mondo_acquatico/posidonia/posidonia.htm

Posidonia oceanica (L.) Delile

- Endémique de la Méditerranée
- Espèce **clef de voûte / ingénieur d'écosystème**
- **Puit de carbone** et forte **production d'O₂**
(e.g. Serrano *et al.*, 2012)
- **Fort déclin** (34%) sur les 50 dernières années
(e.g. Telesca *et al.*, 2015)
- Protégée par un arrêté du 19/07/1988

Les épibiontes de la feuille de posidonie

- L'épibionte représente **6 à 34%** de la biomasse épigée (Lepoint *et al.*, 1999)
- Communautés d'animaux, d'algues et de microorganismes.
- **Échange de nutriments** avec les feuilles (Libes & Boudouresque, 1987)
- D'avantage la **cible du broutage** que les feuilles (Lepoint *et al.*, 2000)



Electra posidonia



Hydrozoaires

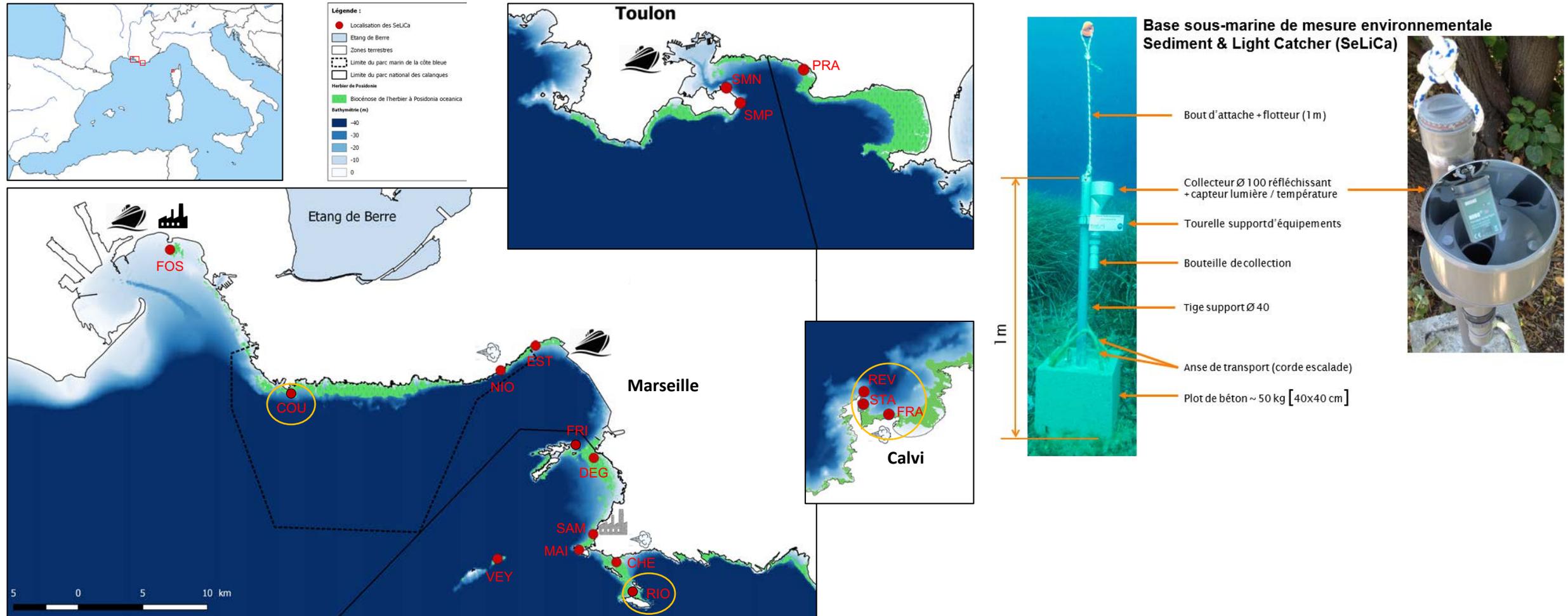
Bryozoaire

Rhodophyte

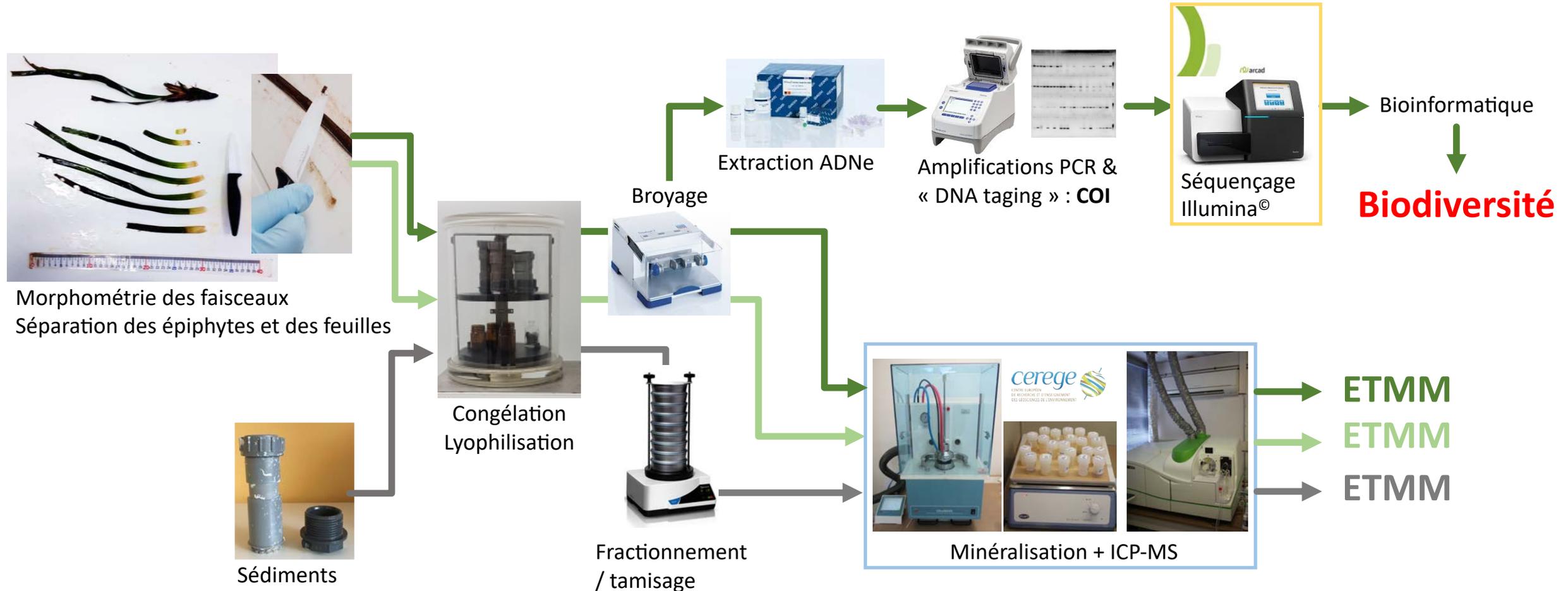
Objectifs généraux

- *Assemblages épibiontes de la feuille de posidonie : qui ? quelles structures et quelle dynamiques ?*
- *Cartographie du forçage anthropique dans les herbiers : ETMM et micropolluants organiques ?*
- *Quels effets sur la structure et la composition des assemblages épibiontes ?*
- *Quels effets sur la photosynthèse et la respiration des herbiers ?*
- *Biomagnification des contaminants ?*

Choix des sites d'étude & équipements



« General workflow »



Collecte des données environnementales & des faisceaux de posidonie

- **6 campagnes** d'échantillonnage entre juillet 2017 et février 2019 sur **3 saisons** (été, automne et hiver)
- Relevés des données **lux / T°** et des pièges à **dépôts sédimentaires**.
- **5 faisceaux** prélevés aléatoirement par site et par campagnes (autorisation DDTM et PNcal)

→ 11 sites x 6 campagnes x 5 répliques = **330 faisceaux de posidonie**

- **Nombre de feuilles** par faisceau
- **Longueur** des feuilles par faisceaux (en cm)
- Pression d'herbivorie : **nombre de marques de broutage**
- récolte / lyophilisation / broyage des épibiontes
- **densité d'épibionte** (en mg/cm²)

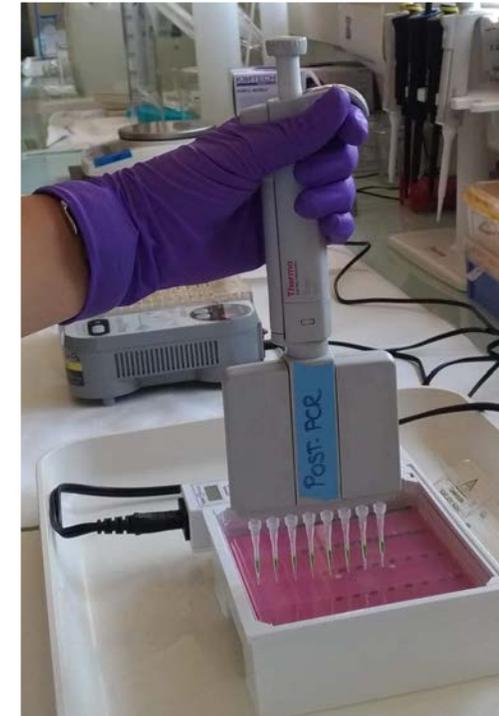
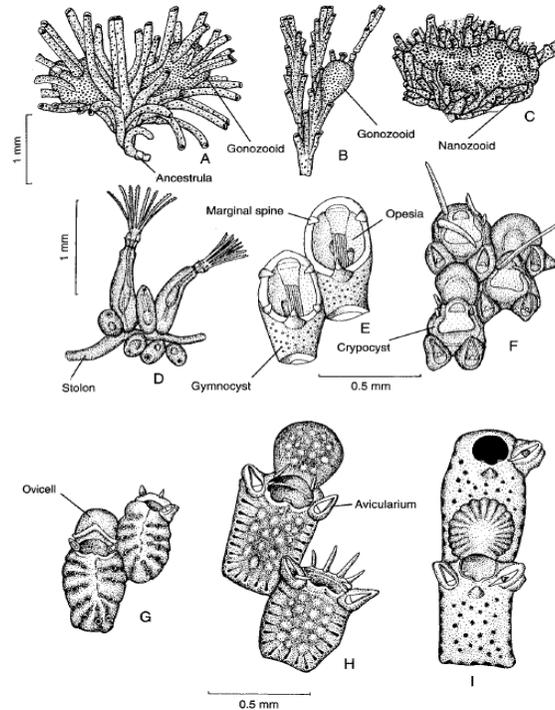


© Cedric Amadéi

Complément des BDD génétiques par « barcoding moléculaire »



© Cedric Amadéi



© Emma Hermann

→ Isolement de spécimens épibiontes

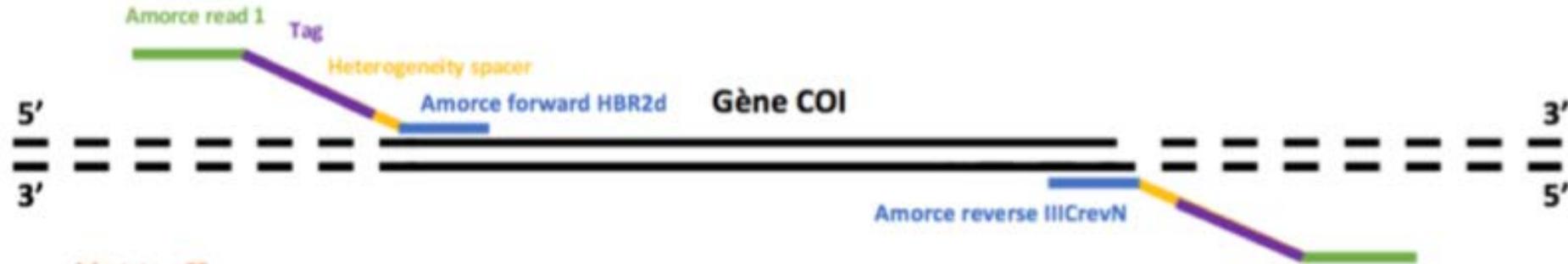
→ clef d'identification (Hayward *et al.*, 1996) + bases de données WoRMS et DORIS

→ **Amplification et séquençage du gène mitochondrial COI (sous-unité de la Cytochrome Oxydase I)**

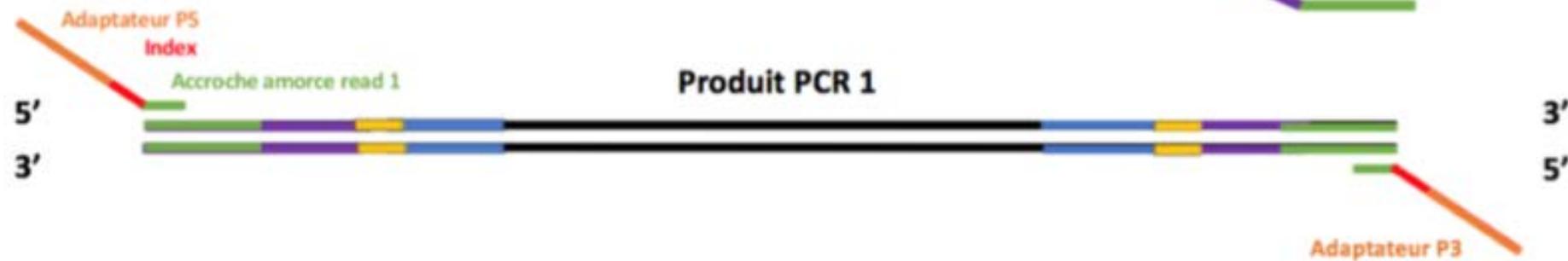
Caractérisation de la diversité des assemblages épibiontes par « metabarcoding »

- Extraction de l'ADN des échantillons d'épibiontes (**ADNe**)
- Amplification **des gènes COI** et marquage moléculaire (**Tag**)

PCR 1



PCR 2



- Séquençage d'amplicons en haut débit (HTS) sur plateforme **Illumina MiSeq®**

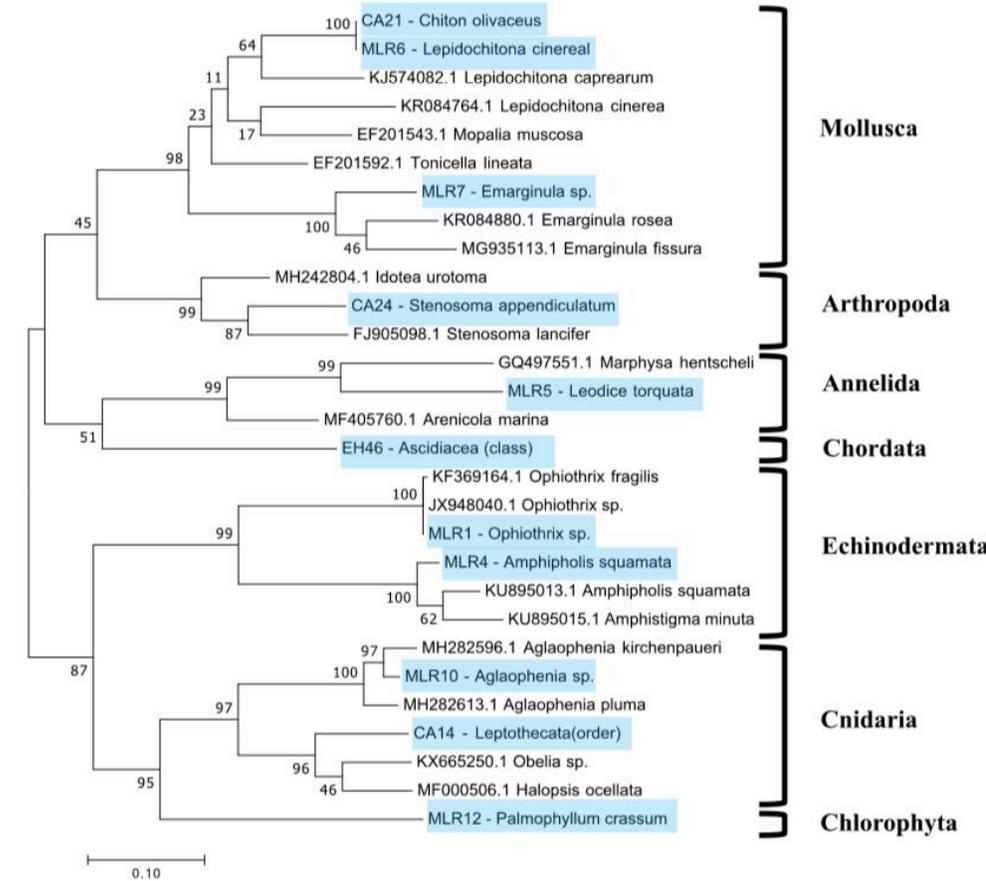
Analyses bioinformatiques des séquençages

Barcoding

- Assemblage des séquences sens et antisens (*assemblage de reads*)
- Recherche de similarité dans les BDD (NCBI)
- **Reconstructions phylogénétiques**
- Complément des BDD locales → metabarcoding

Metabarcoding

- Assemblage des séquences sens et antisens (*assemblage de reads*)
- Suppression des séquences erronées ou des contaminants
- Regroupements des séquences en **variants** et affiliation taxonomiques (BDD NCBI) → table d'abondance *variants*
- Regroupement des variants en **clusters** (97% de similarité) → table d'abondance *clusters*



Analyses des Eléments Traces Métalliques et Metalloïdes (ETMM)

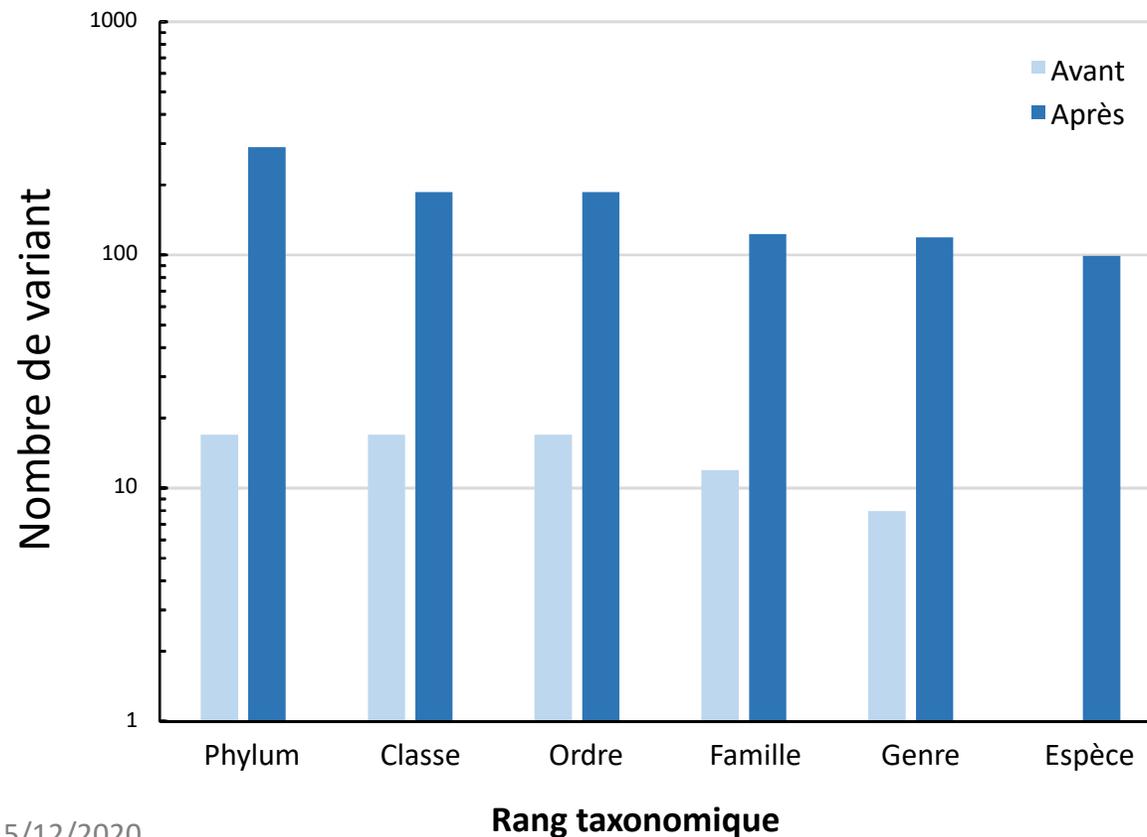
- Nettoyage préalable du matériel à l'acide nitrique (1:10)
- Fractionnement granulométrique des sédiments
- Pesées et filtration des échantillons d'**épibiontes**, de **feuilles** et de **sédiments**
- **Minéralisation acide**
- Analyse **ICP-MS**



* Couplage barcoding - metabarcoding : amélioration significative des BDD génétiques

Avant : **17** variants assignés au phylum bryzoaire.

Après : **290** variants assignés au phylum bryzoaire
& **99** à l'échelle de l'espèces.



© Emma Hermann
Chorizopora brongniartii



© Emma Hermann
Entalophoroecia sp.

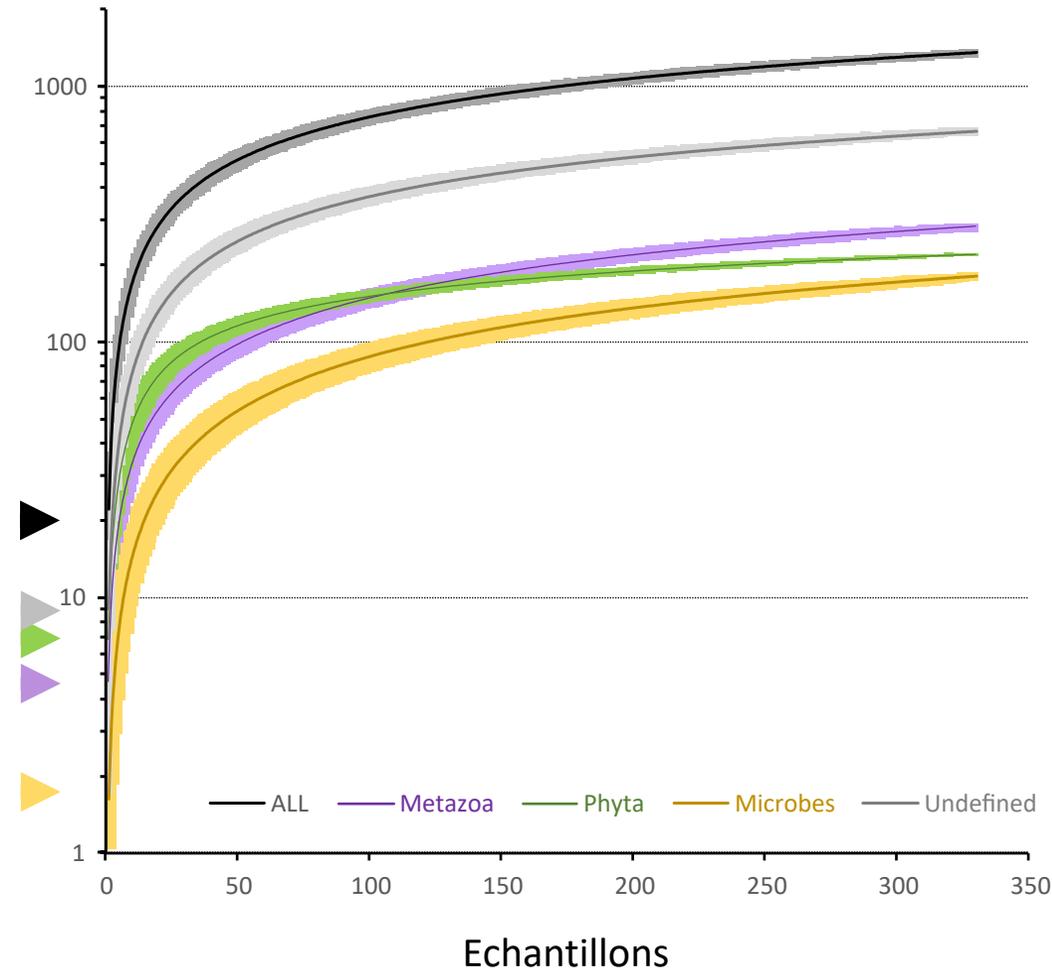
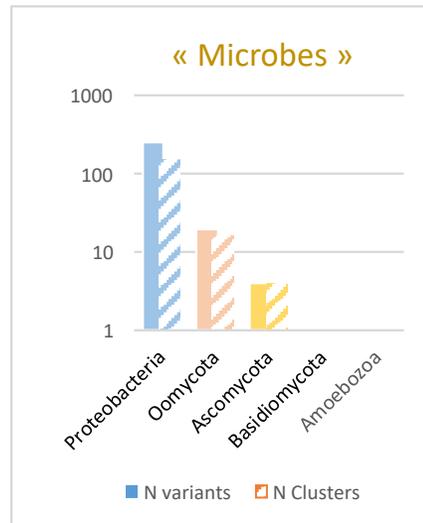
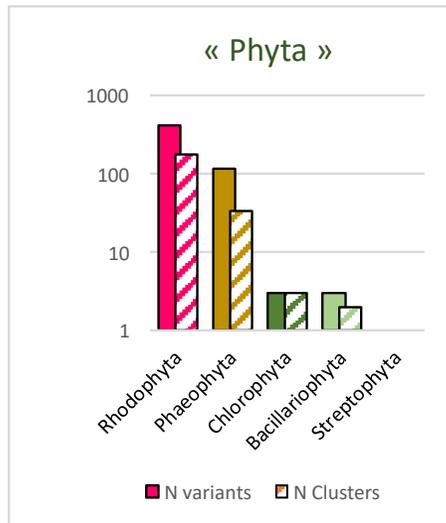
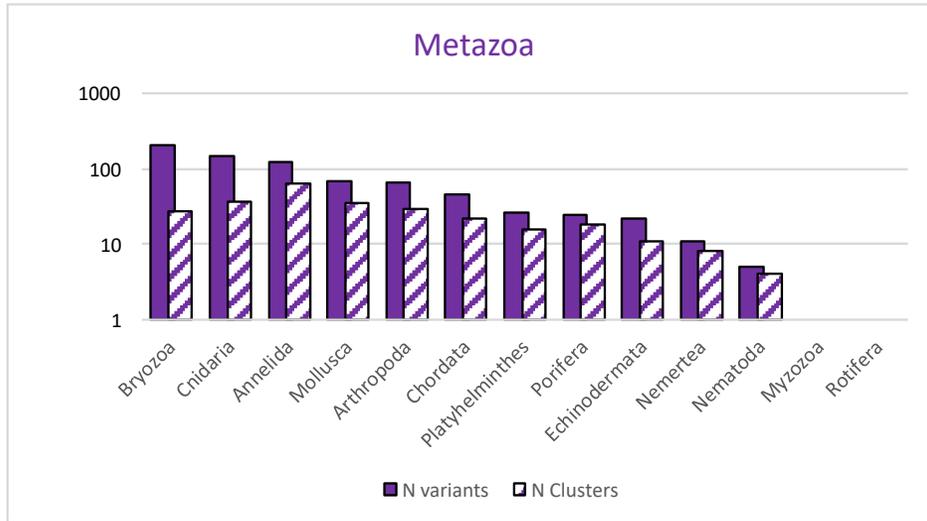


© Emma Hermann
Patinella radiata

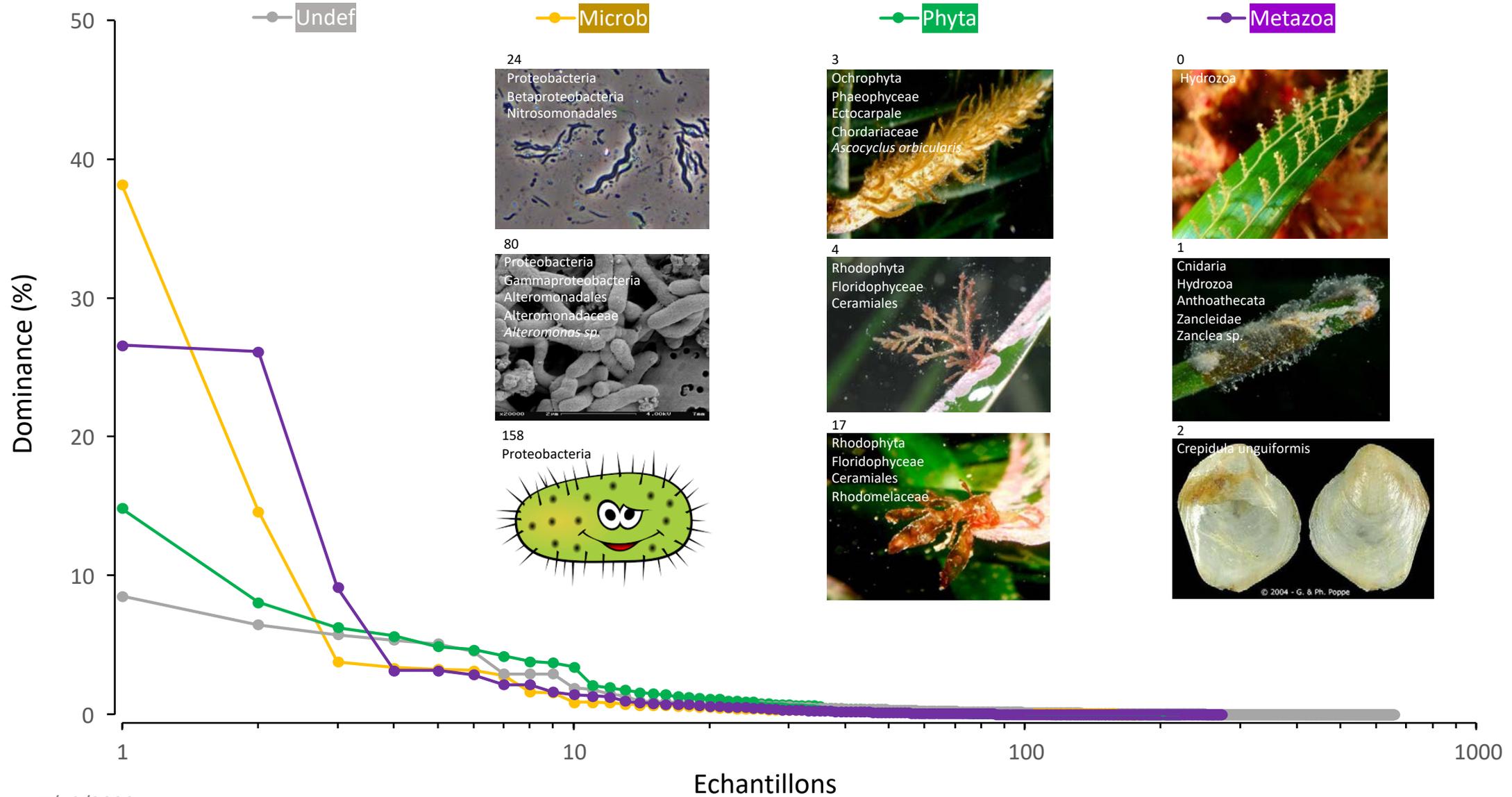


© Emma Hermann
Caberea boryi

* Caractérisation détaillée de la composition des assemblages épibiontes de la posidonie



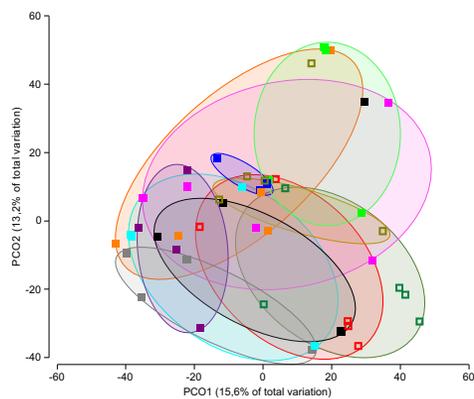
* Caractérisation détaillée de la composition des assemblages épibiontes de la posidonie



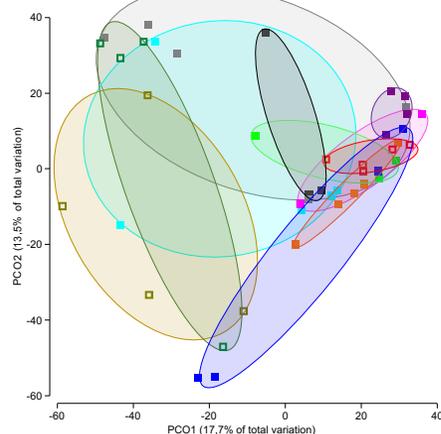
* Mesure de la variabilité spatio temporelle des assemblages épibiontes

Metazoa

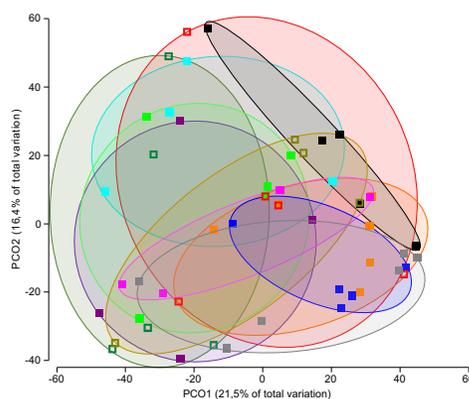
Été 2017



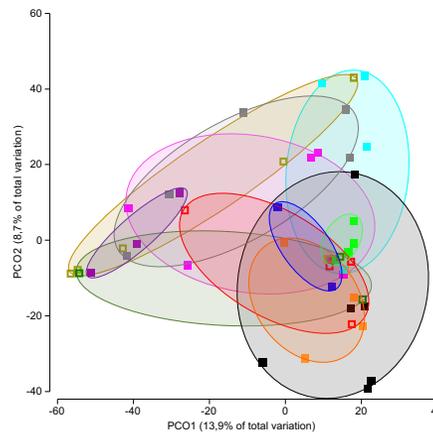
Automne 2017



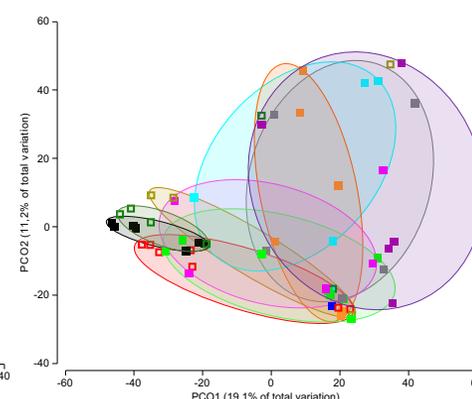
Hiver 2018



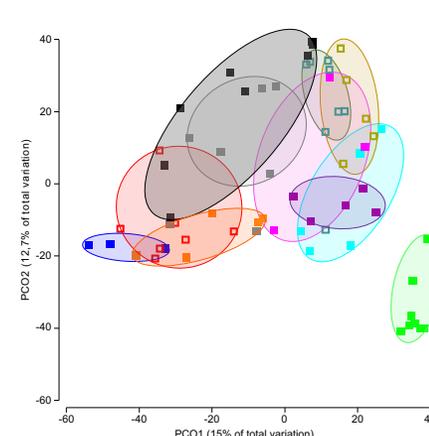
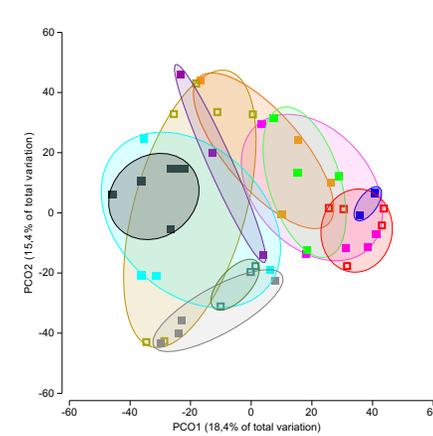
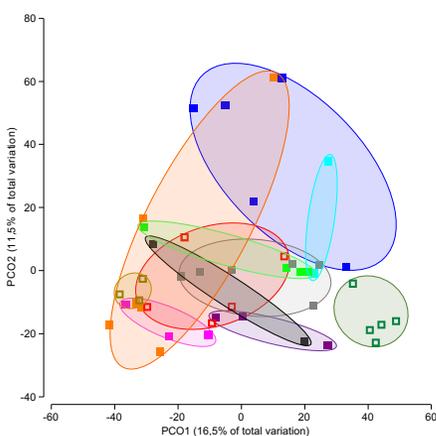
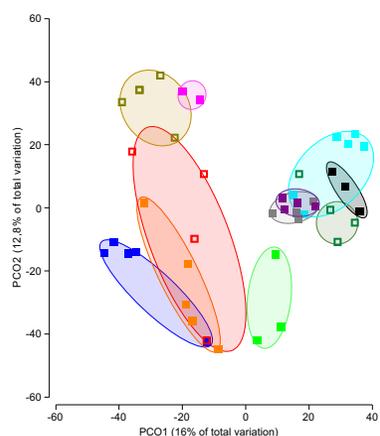
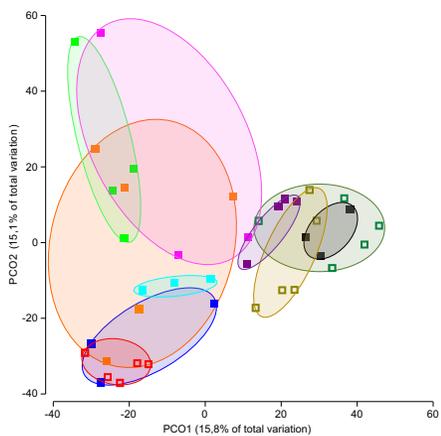
Été 2018



Automne 2018



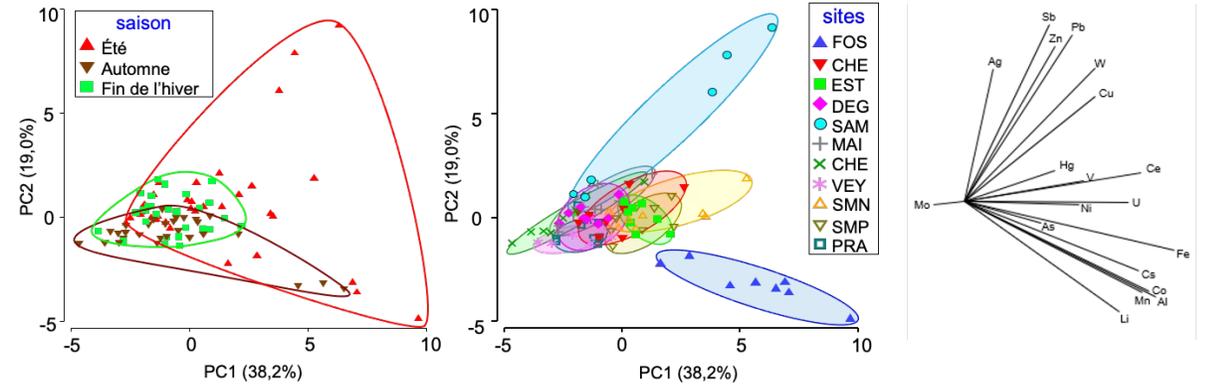
« Phyta »



FOS
 NIO
 EST
 DEG
 SAM
 MAI
 CHE
 VEY
 SMN
 SMP
 PRA

➔ Teneur en ETMM des assemblages épiphytes

- Concentrations en ETMM les plus élevées **en été**
- Forte variabilité inter site
- Contamination plus élevée à FOS, SAM et SMN
- Contamination plus faible à CHE et VEY



| | FOS | NIO | EST | DEG | SAM | MAI | CHE | VEY | SMN | SMP | PRA |
|----|----------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|--------------|---------------|-----------------|----------------|--------------|
| Ag | 0,114 | 0,146 | 0,113 | 0,142 | 0,275** | 0,219* | 0,187 | 0,142 | 0,096 | 0,127 | 0,159 |
| Al | 8808*** | 2769 | 3502 | 1875 | 1811 | 1865 | 1356 | 2335 | 5149** | 4145* | 2316 |
| As | 12,7 | 15,6** | 15,9** | 7,9 | 9,6 | 7,8 | 9,8 | 6,2 | 12,1 | 10,2 | 8,3 |
| Cd | 0,70 | 1,10 | 1,13 | 1,37* | 1,45* | 1,22* | 1,02 | 1,00 | 0,70 | 1,21* | 1,07 |
| Ce | 15,8*** | 3,8 | 8,0* | 5,4 | 13,6** | 6,4 | 2,9 | 3,6 | 8,4* | 8,2* | 8,4* |
| Co | 4,50*** | 1,01 | 1,23 | 1,12 | 1,01 | 0,89 | 0,66 | 1,01 | 1,24 | 1,28 | 1,06 |
| Cr | 19,0 | 15,7 | 8,4 | 25,8* | 6,4 | 16,9 | 17,1 | 18,9 | 25,4* | 17,3 | 4,4 |
| Cs | 1,42*** | 0,48 | 0,54 | 0,29 | 0,33 | 0,31 | 0,20 | 0,39 | 1,34*** | 1,15** | 0,43 |
| Cu | 7,4 | 8,7 | 10,2* | 6,1 | 10,3* | 7,4 | 7,0 | 4,4 | 11,9** | 9,6 | 4,6 |
| Fe | 9922** | 2748 | 3166 | 1929 | 4029* | 2123 | 1191 | 1782 | 3950* | 3006 | 2049 |
| Hg | 0,052 | 0,086 | 0,089 | 0,075 | 0,071 | 0,058 | 0,045 | 0,031 | 0,293*** | 0,099 | 0,016 |
| Li | 12,9*** | 5,1 | 5,5 | 4,1 | 4,6 | 3,7 | 3,2 | 4,7 | 7,2** | 6,2** | 4,3 |
| Mn | 613*** | 100 | 171** | 98 | 116 | 82 | 48 | 76 | 132* | 119 | 110 |
| Mo | 1,2 | 2,4 | 0,6 | 3,4 | 0,7 | 2,7 | 2,1 | 10,7** | 3,1 | 2,6 | 1,6 |
| Nd | 7,98*** | 2,17 | 6,66** | 2,88 | 3,34 | 2,50 | 1,48 | 1,98 | 3,96 | 4,07 | 4,14* |
| Ni | 12,0** | 8,5 | 7,3 | 8,4 | 6,4 | 8,2 | 6,6 | 8,6 | 9,0 | 9,5 | 5,3 |
| Pb | 18,0 | 29,9 | 29,4 | 19,2 | 76,4** | 20,9 | 11,7 | 10,1 | 46,5* | 25,8 | 12,1 |
| Sb | 0,29 | 0,34 | 0,29 | 0,27 | 1,81*** | 0,29 | 0,33 | 0,23 | 0,28 | 0,26 | 0,22 |
| Sn | 1,74 | 1,69 | 1,73 | 1,50 | 3,77** | 1,27 | 1,71 | 1,04 | 2,66* | 2,06 | 1,44 |
| U | 0,904** | 0,500 | 0,641* | 0,397 | 0,653* | 0,496 | 0,417 | 0,484 | 0,524 | 0,507 | 0,432 |
| V | 39,3 | 46,3* | 23,2 | 11,8 | 18,9 | 23,2 | 12,0 | 16,8 | 29,3 | 34,8 | 12,3 |
| W | 0,131** | 0,082 | 0,088 | 0,090 | 0,236*** | 0,094 | 0,062 | 0,099 | 0,115 | 0,134** | 0,068 |
| Zn | 83 | 92 | 116* | 105 | 192** | 93 | 77 | 56 | 105 | 100 | 67 |

* Influence des ETMM sur la composition des assemblages épibiontes (dbRDA)

| | Ag | Al | As | Cd | Ce | Co | Cr | Cs | Cu | Fe | Hg | K | Li | Mg | Mn | Mo | Ni | Pb | Sb | Sn | U | V | W | Zn | Zr | Best R ² | |
|-----------|----|----|----|--------------|-------|----|----|----|----|----|--------------|--------------|----|----|----|-------|----|----|----|----|--------------|--------------|---|-------|----|---------------------|-------|
| Overall | | | | 0,067 | | | | | | | 0,065 | | | | | | | | | | | | | 0,065 | | 0,197 | |
| Metazoa | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,056 |
| Phyta | | | | 0,092 | 0,047 | | | | | | 0,086 | | | | | 0,051 | | | | | | | | 0,077 | | 0,354 | |
| Microbes | | | | 0,107 | | | | | | | | 0,087 | | | | | | | | | 0,089 | 0,117 | | | | 0,399 | |
| Undefined | | | | 0,059 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,059 | |

- les groupes taxonomiques « **phyta** » et « **microbes** » des assemblages épiphytes sont les plus sensibles aux ETMM
- Les assemblages épiphytes sont particulièrement sensibles aux teneurs en Cd, Ce, Hg, K, Mo, Sn, U et Zn

- Mise en évidence de la contamination de certains herbiers en ETMM
- Correspondance entre les contaminations et les activités anthropiques adjacentes
- Variabilité temporelle et spatiale des teneurs en ETMM dans les feuilles et les épibiontes
- Echanges de certains ETMM entre les épibiontes et les feuilles ?

Perspectives

- Effet des ETMM sur les espèces vagiles présentes dans les herbiers : toxicité ? transferts trophiques ?
- Recherche des HAP et des micropolluants organiques (retard covid)
- Analyse des dépôts sédimentaires (retard covid)

Financements obtenus pour continuer ...

→ Région Sud **IMPOMED** (2019-2021) :

Impact des polluants sur la biodiversité marine méditerranéenne.

→ DRIIHM inter ROHM **BFR-Med** (2020-21) :

Etude de la contamination par les retardateurs de flamme bromés prioritaires et émergents sur la façade Méditerranéenne des calanques Marseillaises au delta du Rhône.

→ ECCOREV **BFR-Envipech** (2020-21) :

Approche croisée sur la contamination par les retardateurs de flamme bromés en façade méditerranéenne – De l'environnement aux pêcheurs (L. Malleret & C. Barthélémy)

→ ITEM **POP transition** (2021-2023):

Des polluants réglementaires aux polluants émergents - Impact des politiques de gestion sur la transition écologique en zone littorale méditerranéenne.

MERCI

Plongée et Service à la mer :

Dorian Guillemain
Laurent Vanbostal
Pierre Pichon
Arnaud Mahaud
Patrick Tixidor
Sandrine Chenesseau
Sandrine Ruitton
Christian Marschal
Sacha Molinari
Virgile Calvert

Metabarcoding et bioinformatique

Emese Meglec
Vincent Dubut
Cécile Chemin

Barcoding et bryozoaires

Jean-George Harmelin

Chimie des ETMM

Benjamin Oursel
Benjamin Misson
Cédric Garnier
Bernard Angeletti

Etudiants :

Cédric Amadéi (M1 & M2)
Edwige Coch (M2)
Hugo Amella (M1 & M2)
Corentin Mouvaux (M1)
Adrien Simorre (M1)
Emma Hermann (L2 & L3)
France Gosselin (L3)
Dylan Paci (BTS)
Cassandra Gianti (BTS)
Lilou Kiereef (BTS)
Melissa Leroux (BTS)
Raphaël Courtecuisses (BTS)