

# METOPHYTO

## Influence de pollutions **ME**talliques multiples représentatives de l'environnement marin côtier **TO**ulonnais sur le pico**PHYTO**plancton



- Benjamin Misson
- Clément Coclet (M2)
- Floriane Delpy (ATER)
- Gaël Durrieu
- Cédric Garnier
- Dominique Jamet
- Christophe Le Poupon
- Marie Mayer (M1)
- Stéphane Mounier
- Nathamie Patel



- Didier Aurelle
- Loïc Gagneux-Robin (BTS)
- Lucie Miché
- Pascal Mirleau



- Aude Barani
- Gérald Grégori



### Production scientifique

- 1 article **en révision** dans Progress in Oceanography  
Clément Coclet, Clément Coclet, Floriane Delpy, Dominique Jamet, Gaël Durrieu, Christophe Le Poupon, Marie Mayer, Benjamin Misson. Trace metal contamination as a toxic and structuring factor for ultraphytoplankton in a multicontaminated Mediterranean coastal area
- 1 autre à partir des données de séquençage ?
- 4 communications en congrès nationaux/internationaux  
B. Misson, C. Coclet, B. Delpy, D. Jamet, B. Durrieu, D. Gagneux-Robin, C. Le Poupon, G. Mounier, J. Yang, B. Durrieu, G. Gagneux-Robin, C. Coclet. Trace metal contamination as a major structuring factor for marine microbial communities - Examples taken from the multicontaminated Toulon bay, France. CAIEF 14 (European for Aquatic Microbial Ecology), Uppsala, 2015 (oral)  
C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrieu, C. Le Poupon, M. Mayer, C. Garnier, B. Misson. Les éléments traces métalliques : effets toxiques et structuraux majeurs sur les communautés ultraphytoplanctoniques marines dans la baie de Toulon (France). Journées nationales d'écotoxicologie Microbienne, 30-31 mars 2016, Marseille, Vieuxport TUV (oral)  
C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, F. Durrieu, C. Le Poupon, C. Garnier, J.-F. Bréard, B. Misson. Trace metal contamination as a toxic and structuring factor for marine ultraphytoplankton - examples taken from the multicontaminated Toulon Bay, France. ICAT16, 11-18 août 2016, Montréal, Canada (poster)  
B. Misson, C. Coclet, M. Mayer, L. Berdjeb, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrieu, C. Le Poupon, J.-F. Bréard, C. Coclet. Interactions between microorganisms and metals contaminants in marine coastal environments: ecotoxicity and ecophysiology. Journées de Réseau des Centres de Recherche Valaisiens, 23-22 novembre 2017, Aix-en-Provence (oral)

### Quelle(s) suite(s) donner à METOPHYTO ?

- poursuivre les analyses génétiques sur cellules triées, application à d'autres questions scientifiques (identification d'eucaryotes très non identifiables par microscopie)
- projet EC2CO accepté : IMPRECI-MP  
IMPACTs PICOtiques entre microorganismes et métaux traces en milieu marin côtier : qui contrôle qui ? (ECCO/MARBIEEL, 2016-2017, 37.8k€, porteur : B. Misson)
- contribution à projet ANR accepté : FOS-SEA  
Environmental risk assessment of biological fouling control along the Mediterranean coast (2016-2020, 61.8k€, porteur : J. Boudenne, LCE)
- nouveau projet soumis à ECCOREV : EpiBioIndic  
EPIBioCibles des herbiers marins : INDICateur de qualité des écosystèmes côtiers? (porteur : Pascal Mirleau, INBEE)

### Points forts :

- dispositif expérimental adapté :
  - communautés microbiennes en croissance dans condition contrôlée
  - pas de contamination en éléments traces
- approche expérimentale pertinente :
  - démonstration de l'impact d'une pollution en concentration trace sur une communauté naturelle complexe

### Points faibles :

- dispositif expérimental imparfait :
  - brassage ? ressources ? température ?
- approche expérimentale incomplète :
  - dynamique des nutriments ?
  - dynamique de spéciation des ETM ?

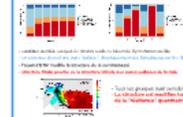
### Des résultats confirmés...

par une manipulation réalisée 1,5 mois plus tard (différent de mélange eau-sédiments + canchères, 1/2M à concentrations équivalentes)

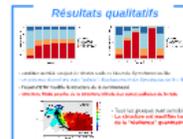
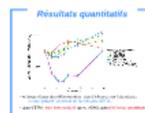
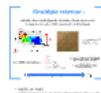
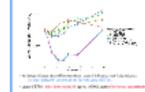
chèque simultané :  
- biovite mesurée après 5 jours  
- médiane quantifiée après 3 semaines  
- structure abiotique au bénéfice des picocaryotes

très forte toxicité d'un cocktail d'ETM représentatif des zones les plus contaminées de la rade

### Résultats qualitatifs



### Résultats quantitatifs



# METOPHYTO

*Influence de pollutions **ME**talliques multiples  
représentatives de l'environnement marin côtier **TO**ulonnais  
sur le pico**PHYTO**plancton*



- **Benjamin Misson**
- Clément Coclet (M2)
- Floriane Delpy (ATER)
- Gaël Durrieu
- Cédric Garnier
- Dominique Jamet
- Christophe Le Poupon
- Marie Mayer (M1)
- Stéphane Mounier
- Nathamie Patel



- Didier Aurelle
- Loïc Gagneux-Robin (BTS)
- Lucie Miché
- Pascal Mirleau



- Aude Barani
- Gérald Grégori



2015-2016

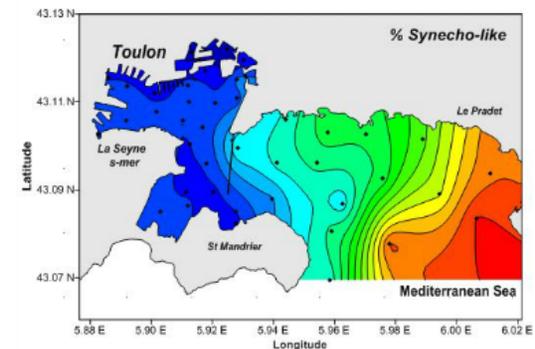
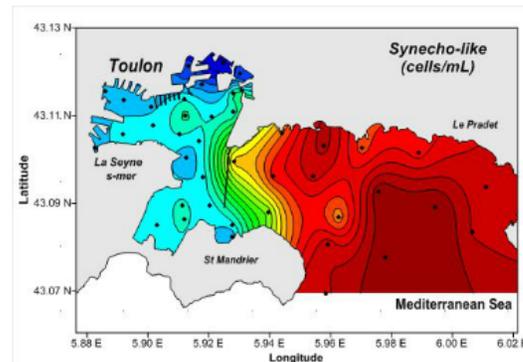
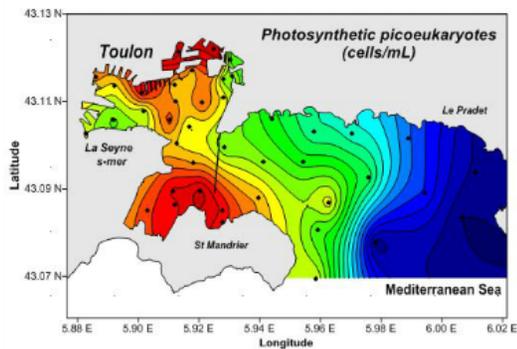
# Un peu de contexte...

## Ultraphytoplankton =

- organismes unicellulaires photosynthétiques <20µm
- > 50% de la production primaire planctonique en mer Méditerranée (N-O)

## Février 2014 : quel ulhytoplankton dans la rade de Toulon ?

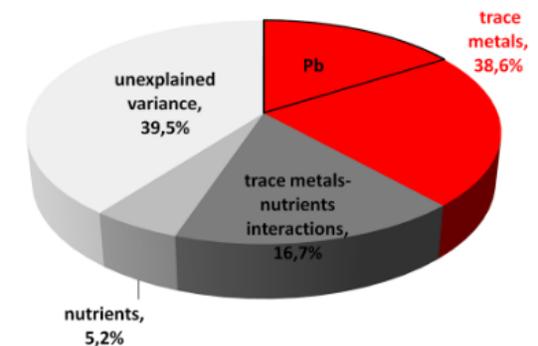
- 2 groupes représentent > 80% : picoeucaryotes photosynthétiques + picocyanobactéries *Synechococcus*-like
- une distribution spatiale très marquée :



- d'un point de vue statistique :

Spearman's correlation test, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$

Biological variables	Cu	Cd	Pb	Zn
<i>Synechococcus</i> -like abundance (2014)	-0.79***	-0.75***	-0.73***	-0.76***
Photosynthetic picoeukaryotes abundance (2014)	0.62***	0.47**	0.43**	0.57***



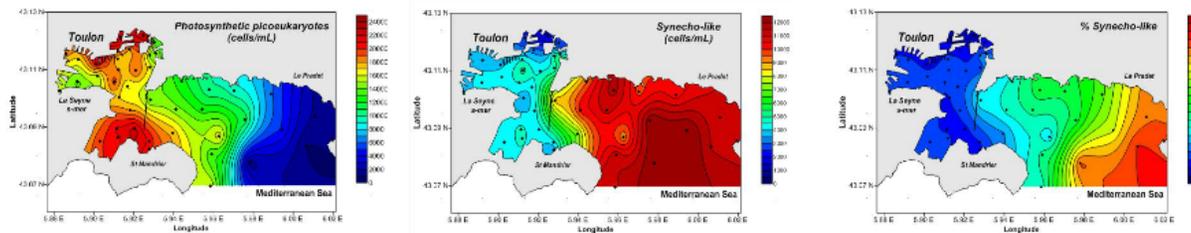
# Un peu de contexte...

## Ultraphytoplankton =

- organismes unicellulaires photosynthétiques <20µm
- > 50% de la production primaire planctonique en mer Méditerranée (N-O)

## Février 2014 : quel ulphytoplankton dans la rade de Toulon ?

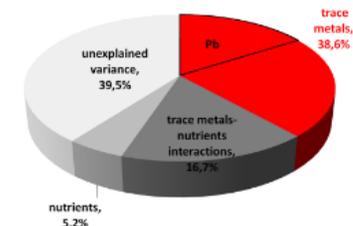
- 2 groupes représentent > 80% : picoeucaryotes photosynthétiques + picocyanobactéries *Synechococcus*-like
- une distribution spatiale très marquée :



- d'un point de vue statistique :

Spearman's correlation test, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$

Biological variables	Cu	Cd	Pb	Zn
<i>Synechococcus</i> -like abundance (2014)	-0.79***	-0.75***	-0.73***	-0.76***
Photosynthetic picoeukaryotes abundance (2014)	0.62***	0.47**	0.43**	0.57***

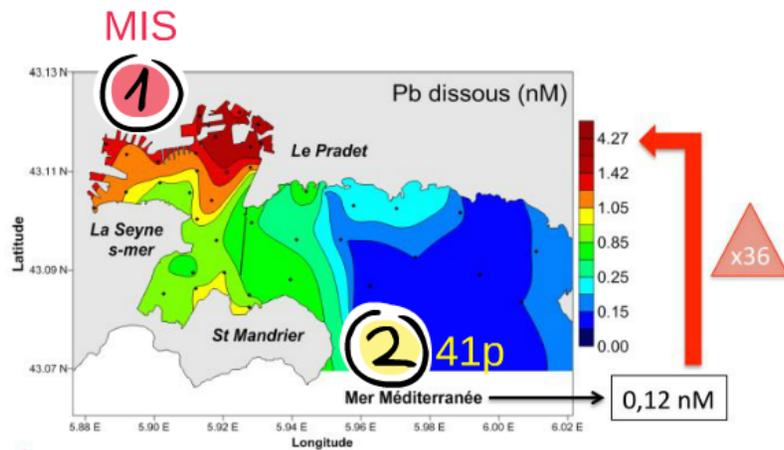


=> objectifs :

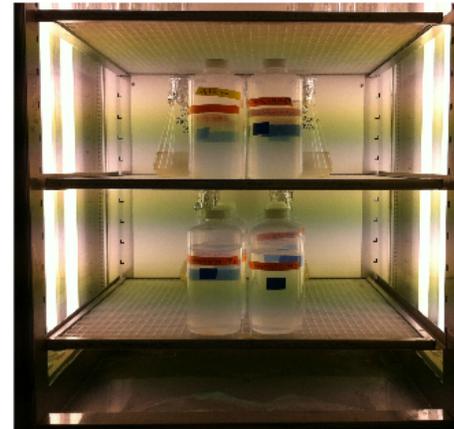
- vérifier la contribution spécifique des ETM
- travailler aux concentrations traces mesurées dans la rade

# Stratégie retenue :

simuler des mélanges de masses d'eau issues de zones de la rade chimiquement contrastées



! Cu  $\Rightarrow$  73 fois plus pollué que la Mer Méditerranée



- 1L d'eau dans flacon FEP
- 50% d'eau  $< 10 \mu\text{m}$
- 50% d'eau  $< 0.2 \mu\text{m}$

6 conditions testées :

- 1 + 1
- 1 + 2
- 2 + 2
- 2 + 2 + ETM
- 2 + 2 + nitrates
- 2 + 2 + ETM + nitrates

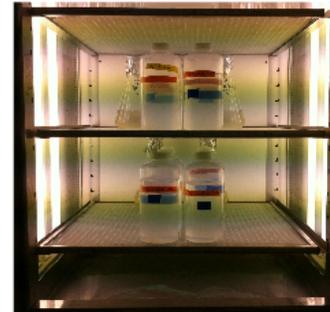
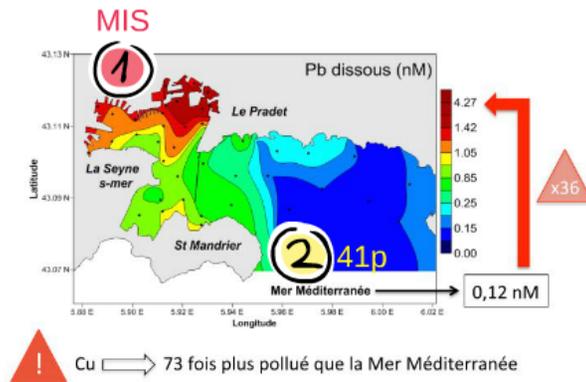
ETM = Cu (37.5 nM), Pb (2.5 nM), Zn (100 nM)  
 $\Rightarrow$  2 à 3x moins qu'en février 2015 dans les darses les plus polluées de la rade

nitrates = 50  $\mu\text{M}$   
 $\Rightarrow$  valeur max observée dans la rade après épisode pluvieux



# Stratégie retenue :

simuler des mélanges de masses d'eau issues de zones de la rade chimiquement contrastées



- 1L d'eau dans flacon FEP
- 50% d'eau < 10  $\mu\text{m}$
- 50% d'eau < 0.2  $\mu\text{m}$

6 conditions testées :

- 1 + 1
- 1 + 2
- 2 + 2
- 2 + 2 + ETM
- 2 + 2 + nitrates
- 2 + 2 + ETM + nitrates

ETM = Cu (37.5 nM), Pb (2.5 nM), Zn (100 nM)  
=> 2 à 3x moins qu'en février 2015 dans les darses les plus polluées de la rade

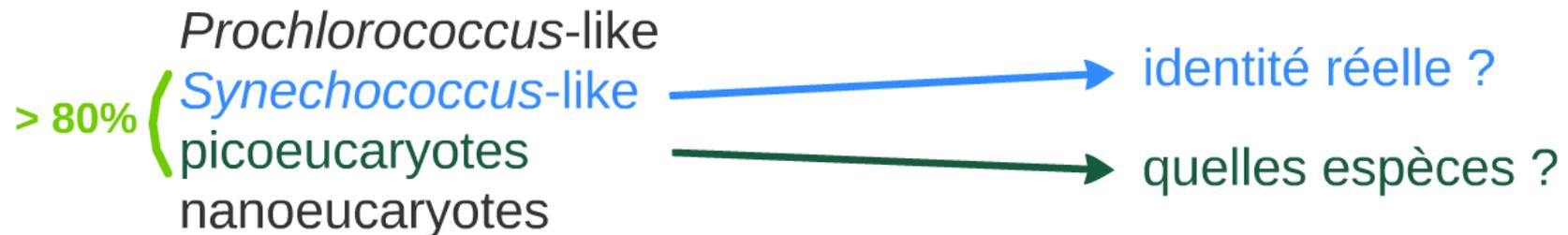
nitrates = 50  $\mu\text{M}$   
=> valeur max observée dans la rade après épisode pluvieux



- réalisé en mars
- après un nouveau mapping de surface de la rade

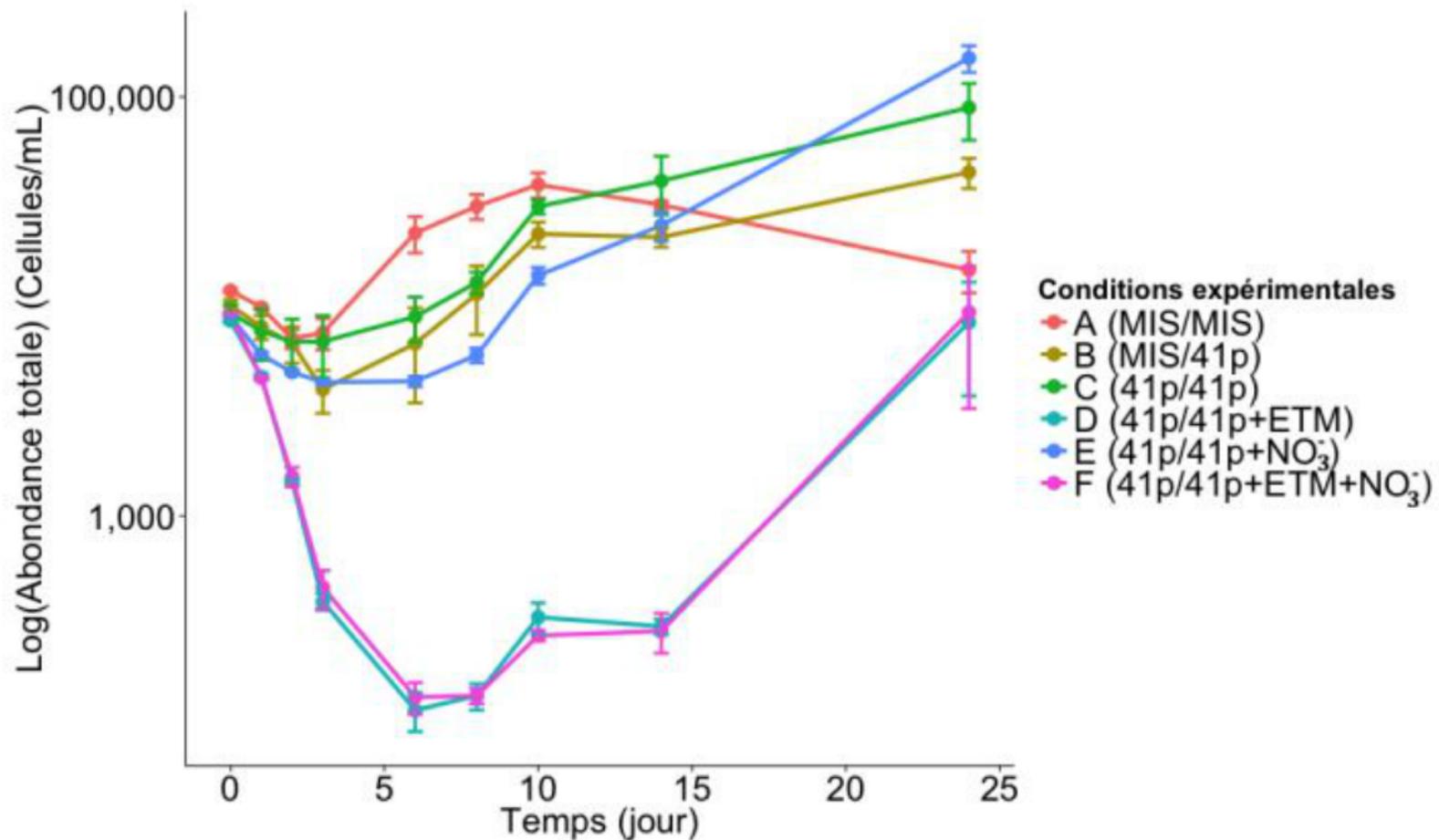
# Méthodes d'analyse :

- [nitrates] et [phosphates] : colorimétrie
- [Cd], [Cu], [Pb], [Zn] totales et dissoutes : électrochimie (DPASV)
- FDOM : fluo 3D
- communautés microbiennes : cytométrie en flux "classique"...



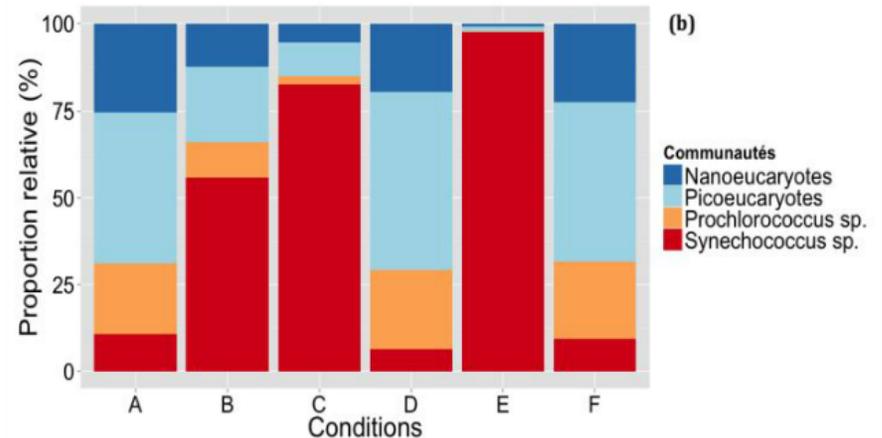
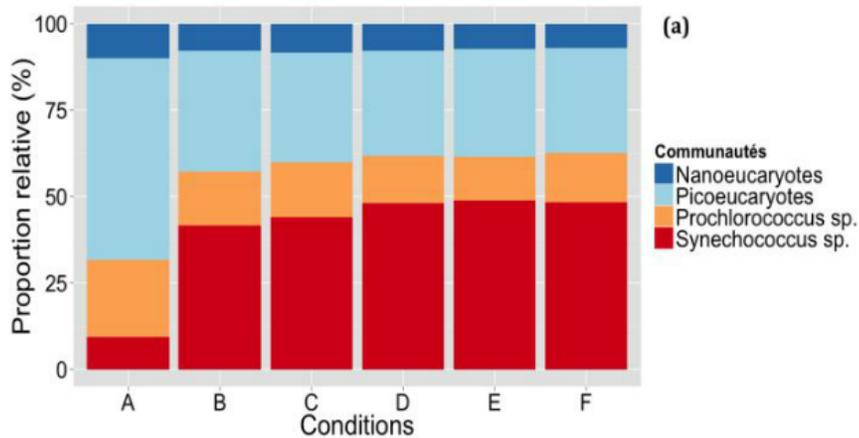
... +tri + extraction ADN,  
amplification par PCR et séquençage

# Résultats quantitatifs

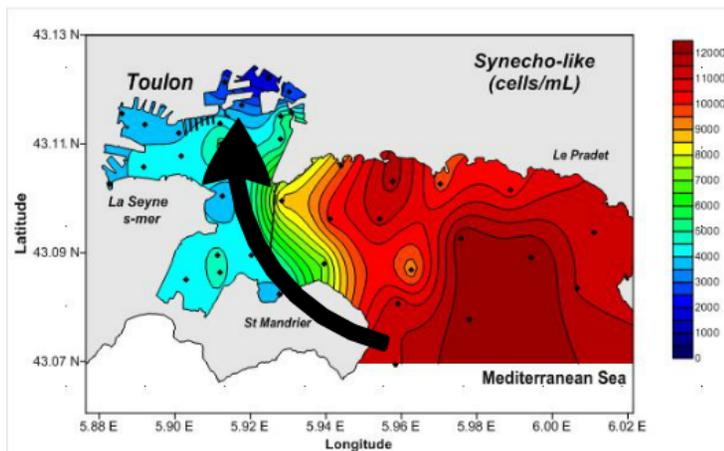


- mélange d'eaux des différents sites : peu d'influence sur l'abondance  
=> eau "polluée" contenait en fait très peu d'ETM...
- ajout d'ETM : **très forte toxicité** (perte >99%), puis **résilience quantitative**

# Résultats qualitatifs



- condition contrôle ou ajout de nitrates seuls => bloom de *Synechococcus*-like
- en présence d'eau d'une zone "polluée", développement des *Synechococcus*-like **limité**
- l'ajout d'ETM modifie la structure de la communauté
- **structure finale proche de la structure initiale des zones polluées de la rade**



- Tous les groupes sont sensibles
- **La structure est modifiée lors de la "résilience" quantitative**

## *Des résultats confirmés...*

par une manip similaire réalisée 1.5 mois plus tard  
(*élutriat de mélange eau-sédiments + conditions  
"ETM" à concentrations équivalentes*)

cinétique similaire :

- toxicité maximale après 6 jours,
- résilience quantitative après 3 semaines,
- structure altérée au bénéfice des picoeucaryotes

**très forte toxicité d'un cocktail d'ETM  
représentatif des zones les plus  
contaminées de la rade**

## *Points forts :*

- **dispositif expérimentale adapté :**
  - communautés microbiennes en croissance dans condition contrôle
  - pas de contamination en éléments traces
- **approche expérimentale pertinente :**
  - démonstration de l'impact d'une pollution en concentration trace sur une communauté naturelle complexe

## *Points faibles :*

- **dispositif experimental imparfait :**
  - brassage ? ressources ? température ?
- **approche experimentale incomplète :**
  - dynamique des nutriments ?
  - dynamique de spéciation des ETM ?

# Quelle(s) suite(s) donner à **METOPHYTO ?**

- poursuivre les analyses génétiques sur cellules triées, **application à d'autres questions scientifiques**  
(identification d'eucaryotes triés non identifiables par microscopie)

- **projet EC2CO accepté** : IMPRECI-M<sup>2</sup>

IMPacts RECIproques entre microorganismes et métaux traces en milieu marin côtier : qui contrôle qui ?

(ECODYN/MicrobiEn, 2016-2017, 37.8k€, porteur : B. Misson)



- **contribution à projet ANR accepté** : FOS-SEA

Environmental risk assessment of biological fouling control along the Mediterranean coast

(2016-2020, 610k€, porteur : JL Boudenne, LCE)

- **nouveau projet soumis à ECCOREV** : EpiBioIndic

EPIBIOntes des herbiers marins : INDICateur de qualité des écosystèmes côtiers?

(porteur : Pascal Mirleau, IMBE)



# Quelle(s) suite(s) donner à **METOPHYTO ?**

- poursuivre les analyses génétiques sur cellules triées, **application à d'autres questions scientifiques**  
(identification d'eucaryotes triés non identifiables par microscopie)

- **projet EC2CO accepté** : IMPRECI-M<sup>2</sup>

IMPacts RECIproques entre microorganismes et métaux traces en milieu marin côtier : qui contrôle qui ?

(ECODYN/MicrobiEn, 2016-2017, 37.8k€, porteur : B. Misson)



- **contribution à projet ANR accepté** : FOS-SEA

Environmental risk assessment of biological fouling control along the Mediterranean coast

(2016-2020, 610k€, porteur : JL Boudenne, LCE)

- **nouveau projet soumis à ECCOREV** : EpiBioIndic

EPIBIOntes des herbiers marins : INDICateur de qualité des écosystèmes côtiers?

(porteur : Pascal Mirleau, IMBE)

# *Production scientifique*

- 1 article *en révision* dans Progress in Oceanography

Clément Coclet, Cédric Garnier, Floriane Delpy, Dominique Jamet, Gaël Durrieu, Christophe Le Poupon, Marie Mayer, Benjamin Misson. **Trace metals contamination as a toxic and structuring factor for ultraphytoplankton in a multicontaminated Mediterranean coastal area**

- *1 autre à partir des données de séquençage ?*

- 4 communications en congrès nationaux/internationaux

B. Misson, C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, B. Lauga, J.F. Ghiglione, D.H. Dang, G. Durrieu, C. Le Poupon, S. Mounier, J. Yang, R. Duran, G. Gregori, O. Pringault, C. Garnier. **Trace metal contamination as a major structuring factor for marine microbial communities - Exemples taken from the multicontaminated Toulon bay, France.** SAME 14 (Symposium for Aquatic Microbial Ecology), Uppsala, 2015. (poster)

C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrei, C. Le Poupon, M. Mayer, C. Garnier, B. Misson. **Les éléments traces métalliques : effets toxiques et structurants majeurs sur les communautés ultraphytoplanctoniques marines dans la rade de Toulon (France).** 3èmes Journées d'Écotoxicologie Microbienne, 16-18 mars 2016, Rovaltain, Valence TGV (oral)

C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrieu, C. Le Poupon, C. Garnier, J.-F. Briand, B. Misson. **Trace metal contamination as a toxic and structuring factor for marine ultraphytoplankton - examples taken from the multicontaminated Toulon Bay, France.** ISME16, 21-26 août 2016, Montréal, Canada (poster)

B. Misson, C. Coclet, M. Mayer, L. Berdjeb, F. Delpy, D. Jamet, . Durrieu, C. Le Poupon, J.-F. Briand, C. Garnier. **Interactions between microorganisms and metallic contaminants in marine coastal environments: ecotoxicity and ecodynamics.** Atelier du Réseau des OHM : contaminants métalliques, 21-22 novembre 2017, Aix-en-Provence (oral)

# METOPHYTO

## Influence de pollutions **ME**talliques multiples représentatives de l'environnement marin côtier **TO**ulonnais sur le pico**PHYTO**plancton



- Benjamin Misson
- Clément Coclet (M2)
- Floriane Delpy (ATER)
- Gaël Durrieu
- Cédric Garnier
- Dominique Jamet
- Christophe Le Poupon
- Marie Mayer (M1)
- Stéphane Mounier
- Nathamie Patel



- Didier Aurelle
- Loïc Gagneux-Robin (BTS)
- Lucie Miché
- Pascal Mirleau



- Aude Barani
- Gérald Grégori



### Production scientifique

- 1 article **en révision** dans Progress in Oceanography  
Clément Coclet, Clément Ginet, Floriane Delpy, Dominique Jamet, Gaël Durrieu, Christophe Le Poupon, Marie Mayer, Benjamin Misson. Trace metal contamination as a toxic and structuring factor for ultraphytoplankton in a multicontaminated Mediterranean coastal area
- 1 autre à partir des données de séquençage ?
- 4 communications en congrès nationaux/internationaux  
B. Misson, C. Coclet, B. Delpy, D. Jamet, B. Durrieu, D. Ginet, D. Le Poupon, C. Le Poupon, G. Mounier, J. Yang, B. Durrieu, G. Ginet, G. Pringault, C. Cornier. Trace metal contamination as a major structuring factor for marine microbial communities - Examples taken from the multicontaminated Toulon bay, France. CAIEF 14 (Ecosystems for Aquatic Microbial Ecology), Uppsala, 2022 (oral)  
C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrieu, C. Le Poupon, M. Mayer, C. Garnier, B. Misson. Les éléments traces métalliques : effets toxiques et structuraux majeurs sur les communautés ultraphytoplanctoniques marines dans la baie de Toulon (France). Journées nationales d'écotoxicologie Microbienne, 30-31 mars 2023, Marseille, Vienne TUV (oral)  
C. Coclet, F. Delpy, D. Jamet, F. Durrieu, C. Le Poupon, C. Garnier, J.-F. Bréard, B. Misson. Trace metal contamination as a toxic and structuring factor for marine ultraphytoplankton - examples taken from the multicontaminated Toulon Bay, France. ICAE16, 11-18 août 2016, Montréal, Canada (poster)  
B. Misson, C. Coclet, M. Mayer, L. Berdjik, F. Delpy, D. Jamet, C. Durrieu, C. Le Poupon, J.-F. Bréard, C. Cornier. Interactions between microorganisms and metals contaminants in marine coastal environments: ecotoxicity and ecophysiology. Journées de Réseau des Centres de Recherche Valaisiens, 23-22 novembre 2017, Aix-en-Provence (oral)

### Quelle(s) suite(s) donner à METOPHYTO ?

- poursuivre les analyses génétiques sur cellules triées, application à d'autres questions scientifiques (identification d'eucaryotes très non identifiables par microscopie)
- projet EC2CO accepté : IMPRECI-MP  
IMPACTs iPCiologiques entre microorganismes et métaux traces en milieu marin côtier : qui contrôle qui ? (ECCO/MiREBIEA, 2016-2017, 37.8k€, porteur : B. Misson)
- contribution à projet ANR accepté : FOS-SEA  
Environmental risk assessment of biological fouling control along the Mediterranean coast (2016-2020, 61.8k€, porteur : J. Boudenne, LCE)
- nouveau projet soumis à ECCOREV : EpiBioIndic  
EpiBioChies des herbiers marins : INDICateur de qualité des écosystèmes côtiers? (porteur : Pascal Mirleau, INEIS)

### Points forts :

- dispositif expérimental adapté :
  - communautés microbiennes en croissance dans condition contrôlée
  - pas de contamination en éléments traces
- approche expérimentale pertinente :
  - démonstration de l'impact d'une pollution en concentration trace sur une communauté naturelle complexe

### Points faibles :

- dispositif expérimental imparfait :
  - brassage ? ressources ? température ?
- approche expérimentale incomplète :
  - dynamique des nutriments ?
  - dynamique de spéciation des ETM ?

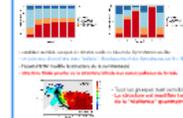
### Des résultats confirmés...

par une manipulation réalisée 1,5 mois plus tard (différent de mélange eau-sédiments + canchères, T<sub>max</sub> à concentrations équivalentes)

chèque simultané :  
- biovité mesurée après 5 jours  
- multiplication quantifiée après 3 semaines  
- structure abiotique au bénéfice des picocaryotes

très forte toxicité d'un cocktail d'ETM représentatif des zones les plus contaminées de la rade

### Résultats qualitatifs



### Résultats quantitatifs

