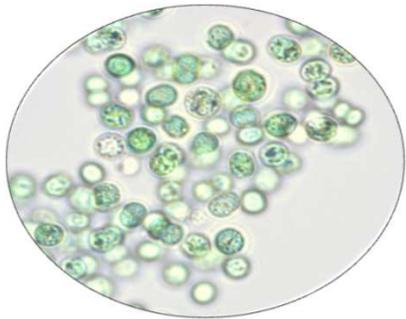
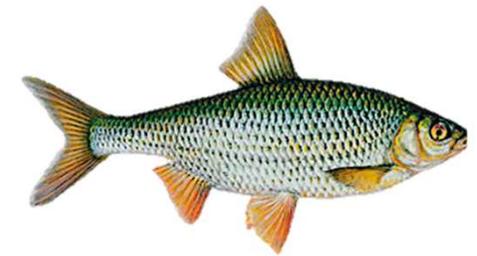


# *Effets des proliférations de cyanobactéries et production de cyanotoxines associées sur les poissons d'eau douce?*

Journée  
FIRE/MCAM  
Cyanobactéries



24 Avr. 2024 - Paris



*Benjamin MARIE*

Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris – France  
*UMR 7245 MCAM – équipe CYANO*



## Problématique : les efflorescences de cyanobactéries

Cyanobactéries : micro-organismes photosynthétiques les plus anciens et les plus nombreux



ex. *Synechococcus*



**Cyanobactéries**



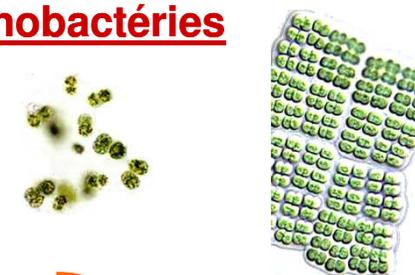
**Recrudescence des efflorescences des cyanobactéries liée à l'*anthropisation* et aux *changements globaux actuels***

# Contexte : les efflorescences de cyanobactéries

Les efflorescences de cyanobactéries perturbent le fonctionnement des anthropo-écosystèmes aquatiques continentaux



## Cyanobactéries

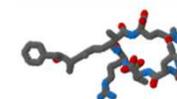


## Impacts :

- Réseaux trophiques
- Oxygénation
- Lumière
- **Métabolites secondaires**



=> **Toxines naturelles (cyanotoxines) aux effets toxicologiques notoires (chez les mammifères)**

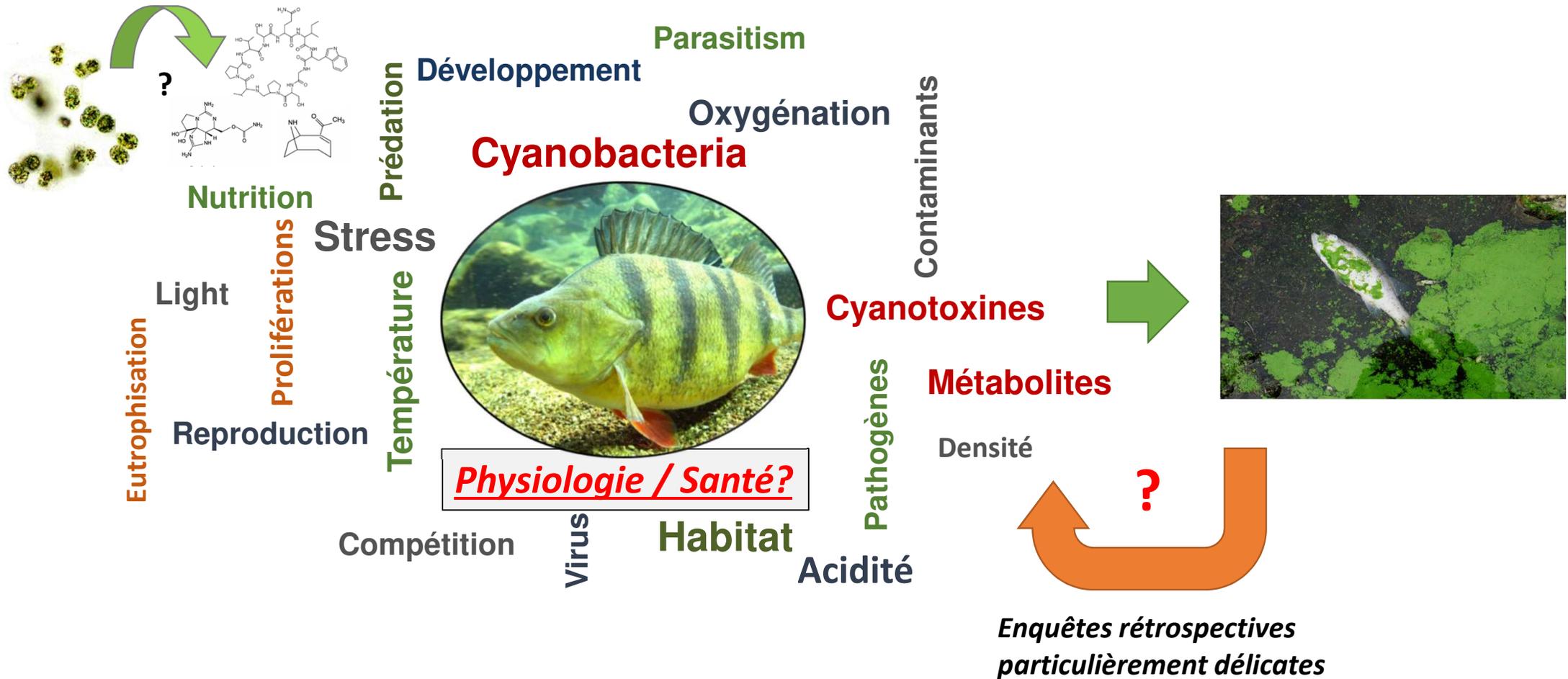


Ex. *Microcystines*  
ou *anatoxines...*

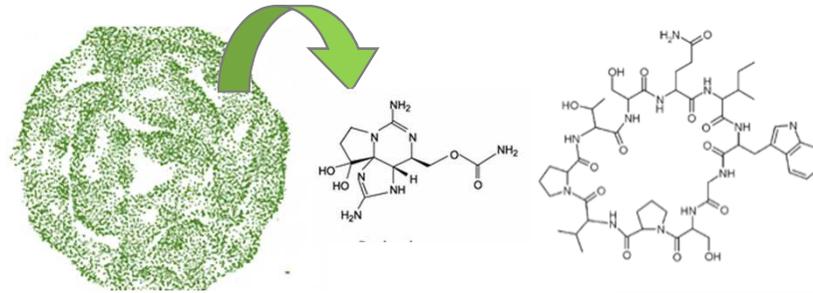
OCDE drinking water  
limit < 1 µg.L<sup>-1</sup> eq.  
MC-LR

# Problématique : effets écotoxicologiques des proliférations de cyanobactéries ?

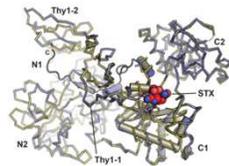
Exposition chronique naturelle à des faibles doses de cocktails de métabolites



# Problématique : effets des proliférations de cyanobactéries sur les poissons ?



## Scénario 1 : co-évolution?



?

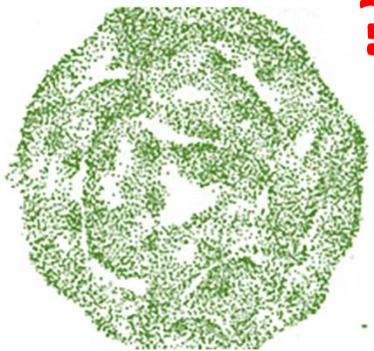
**Ex. Tetrodotoxin- & PSP-binding =>**  
protéines qui lient les PSP (chez le *Fugu*) et qui  
auraient des orthologues chez d'autres poissons...  
mais est ce que cette fonction serait conservée ???

## Scénario 2 : Effets écotoxicologiques?

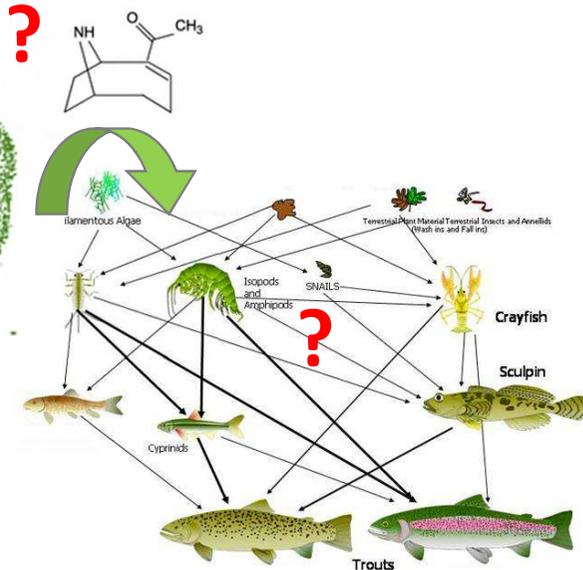


# PROBLEMATIQUE DE RECHERCHE : l'écotoxicologie des cyanobactéries

## « Écotoxicologie des cyanobactéries chez les poissons »



Cyanobacteria

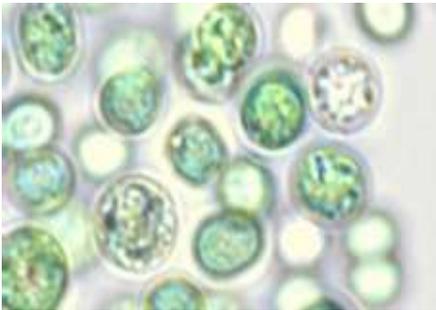


### Principaux verrous de l'écotoxicologie des cyanobactéries :

- Diversité des cyanobactéries?
- Diversité des métabolites bioactifs?
- Voix d'exposition naturelle?
- Transfert *via* chaîne trophique?
- Effets toxicologiques spécifiques?
- Effet sur les populations et les peuplements?
- Effet sur le fonctionnement de l'écosystème aquatique?

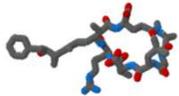
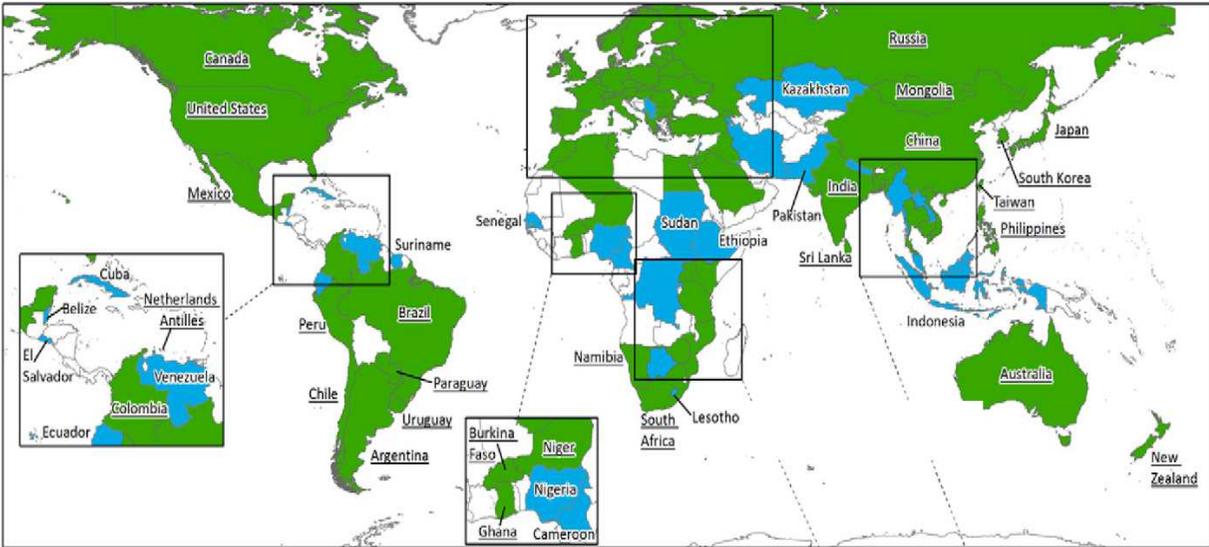
**Besoin de développer des approches spécifiques afin de pouvoir mieux caractériser les risques écotoxicologiques**

# Les efflorescences toxigènes de *Microcystis* = phénomène mondial recrudescant



Global distribution of *Microcystis*

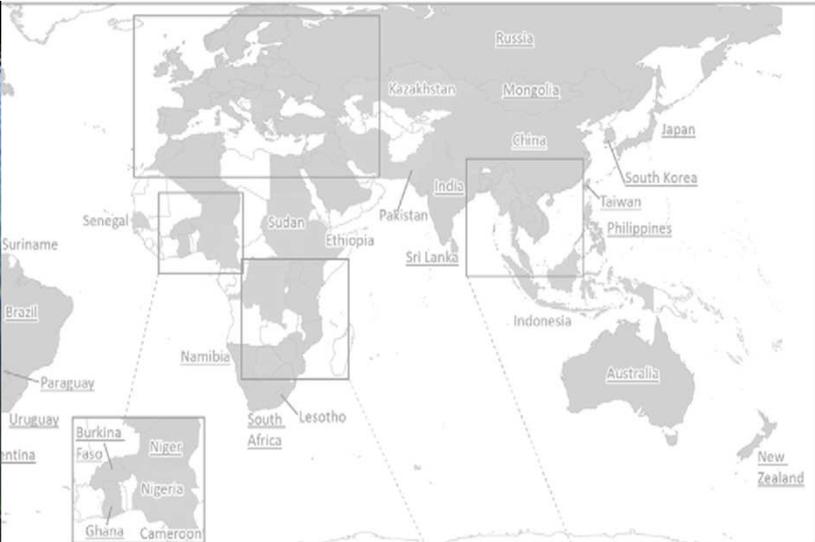
- No record
- Bloom reported
- Bloom and toxin reported



**Microcystins (MC)**  
(OCDE<sub>DWCL</sub> < 1 µg·L<sup>-1</sup>)

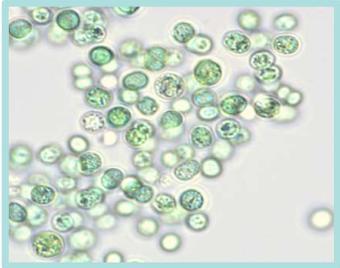
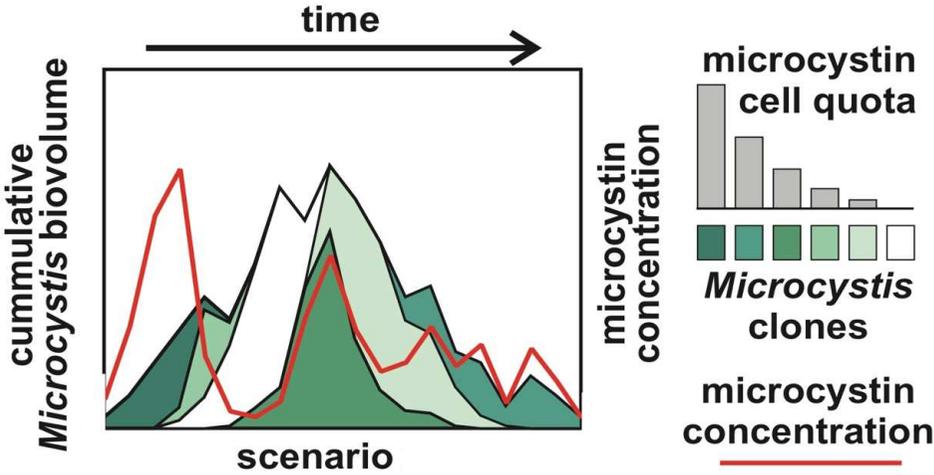
Harke et al. 2016

# Les efflorescences toxigènes de *Microcystis* = phénomène mondial recrudescant



*Microcystins* (MC)  
(OCDE<sub>DWCL</sub> < 1 µg·L<sup>-1</sup>)

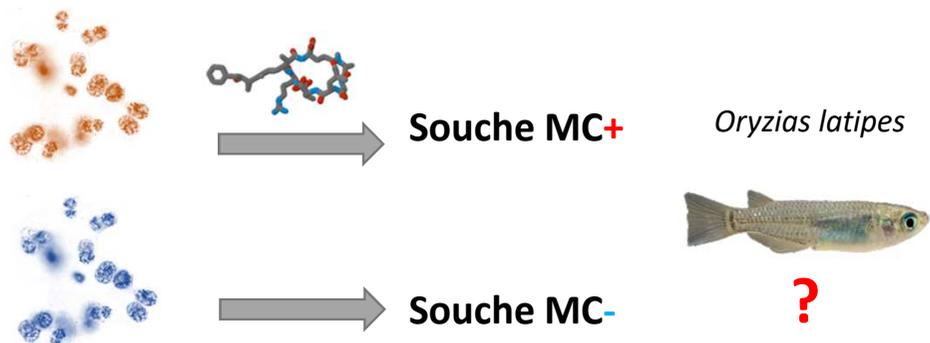
Harke et al., 2016



Collection de souches (MNHN)

***Dans quelle mesure les différents génotypes pourraient induire des effets toxiques?***

# Etude 1 : Effets anatomopathologiques des 2 souches de *Microcystis* (MC- et MC+)



Environmental Pollution 234 (2018) 523–537

Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)

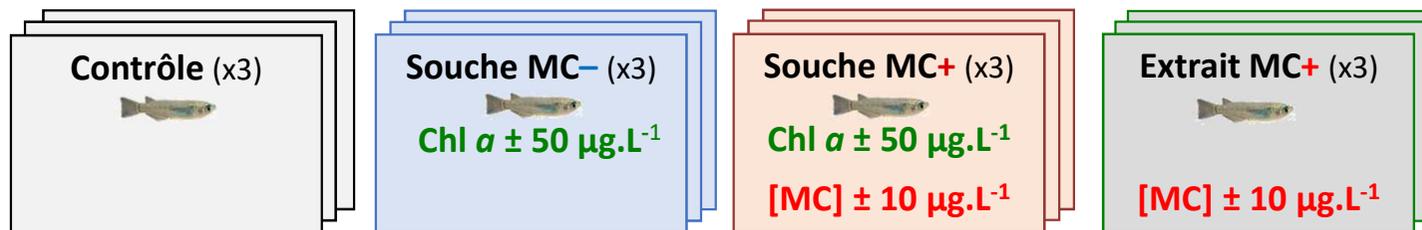
Physiological effects caused by microcystin-producing and non-microcystin producing *Microcystis aeruginosa* on medaka fish: A proteomic and metabolomic study on liver\*

Séverine Le Manach <sup>a,\*</sup>, Benoit Sotton <sup>a</sup>, Hélène Huet <sup>a,b</sup>, Charlotte Duval <sup>a</sup>, Alain Paris <sup>a</sup>, Arul Marie <sup>a</sup>, Claude Yépreman <sup>a</sup>, Arnaud Catherine <sup>a</sup>, Lucrèce Mathéron <sup>c</sup>, Joelle Vinh <sup>d</sup>, Marc Edery <sup>a</sup>, Benjamin Marie <sup>a,\*\*</sup>

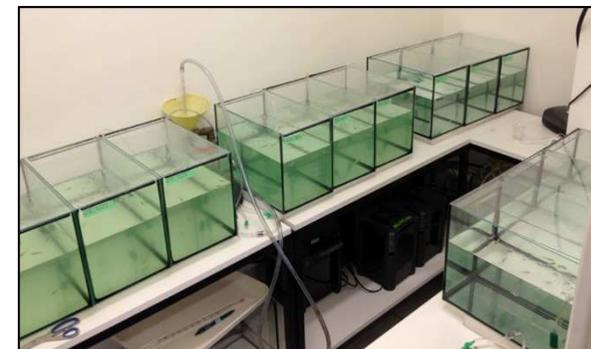
## Expérimentations en microcosmes avec le poisson Médaka (21j)

- 10 poissons Médaka par aquarium (5 femelles et 5 mâles)
- Balnéation 21 jours
- 4 traitements (en triplicats) :

- 1/ Contrôle
- 2/ Cellule d'une souche MC-
- 3/ Cellule de souche MC+
- 4/ Extrait de la souche MC+



**Doses environnementales réalistes**

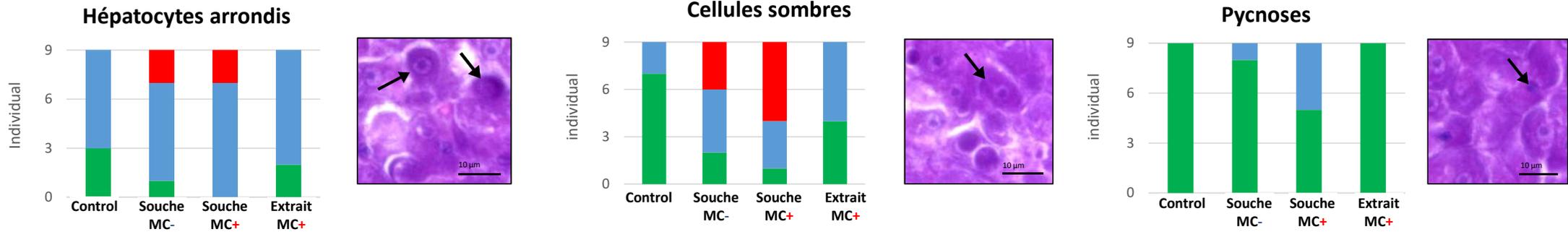


# Etude 1 : Effets anatomopathologiques des 2 souches de *Microcystis* (MC<sup>-</sup> et MC<sup>+</sup>)

## A/ Effets anatomopathologiques hépatiques subchroniques :



Legend for toxicity levels: ■ ++ ■ + ■ 0



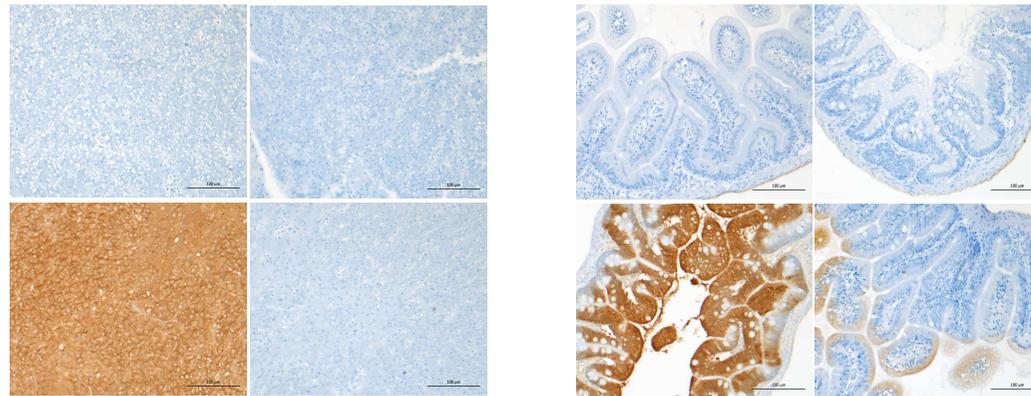
**Souche MC<sup>-</sup> quasiment aussi toxique que la souche MC<sup>+</sup>, mais l'extrait nettement moins...**

## B/ Immunohistochimie :

Anti-microcystines  
(couleur brune)

**Foie**

**Intestin**



**Consommation active des cellules de *Microcystis* par les Médaka**

**=> importance du comportement dans l'exposition et les effets toxicologiques**

# Etude 2 : Effets moléculaires précoces d'exposition à une culture de *Microcystis*



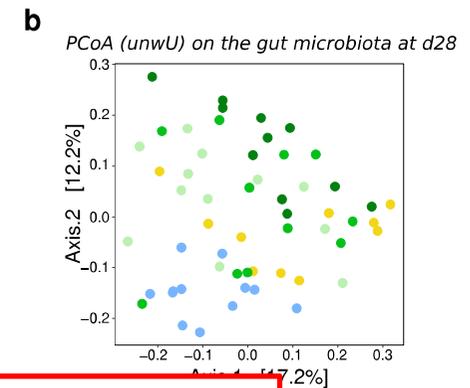
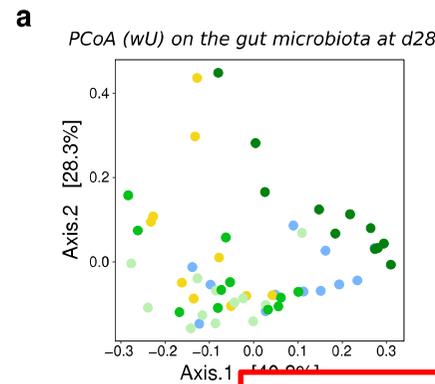
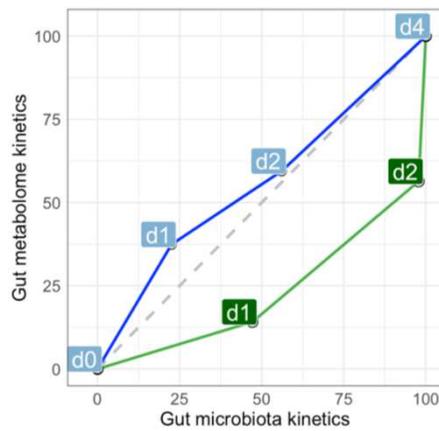
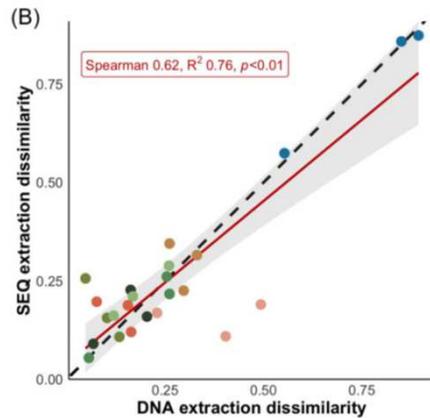
Alison Gallet



Pierre Foucault

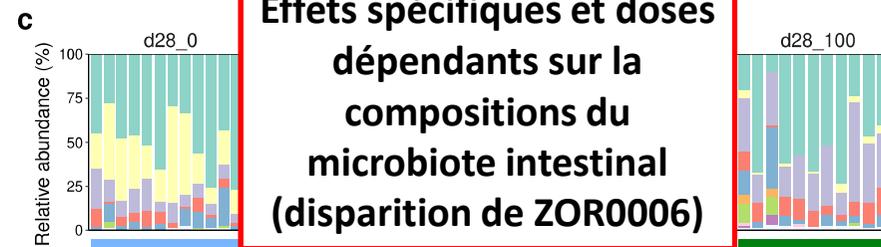


## Double analyse métabolome/microbiome intestinal



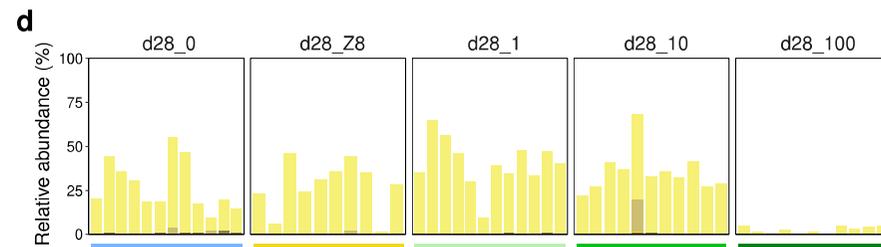
Treatment

- d28\_0
- d28\_Z8
- d28\_1
- d28\_10
- d28\_100



Phylum

- Fusobacteriota
- Firmicutes
- Proteobacteria
- Bacteroidota
- Unassigned
- Planctomycetota
- Actinobacteriota
- Cyanobacteria
- Verrucomicrobiota
- Myxococcota
- Chloroflexi
- Dependenteae
- <1%



Family

- Erysipelotrichaceae
- Peptostreptococcaceae
- Lachnospiraceae
- Others Firmicutes

Effets sur le microbiote précédent les effets sur le métabolome (dès 1 jours)

Effets spécifiques et doses dépendants sur la compositions du microbiote intestinal (disparition de ZOR006)

# Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

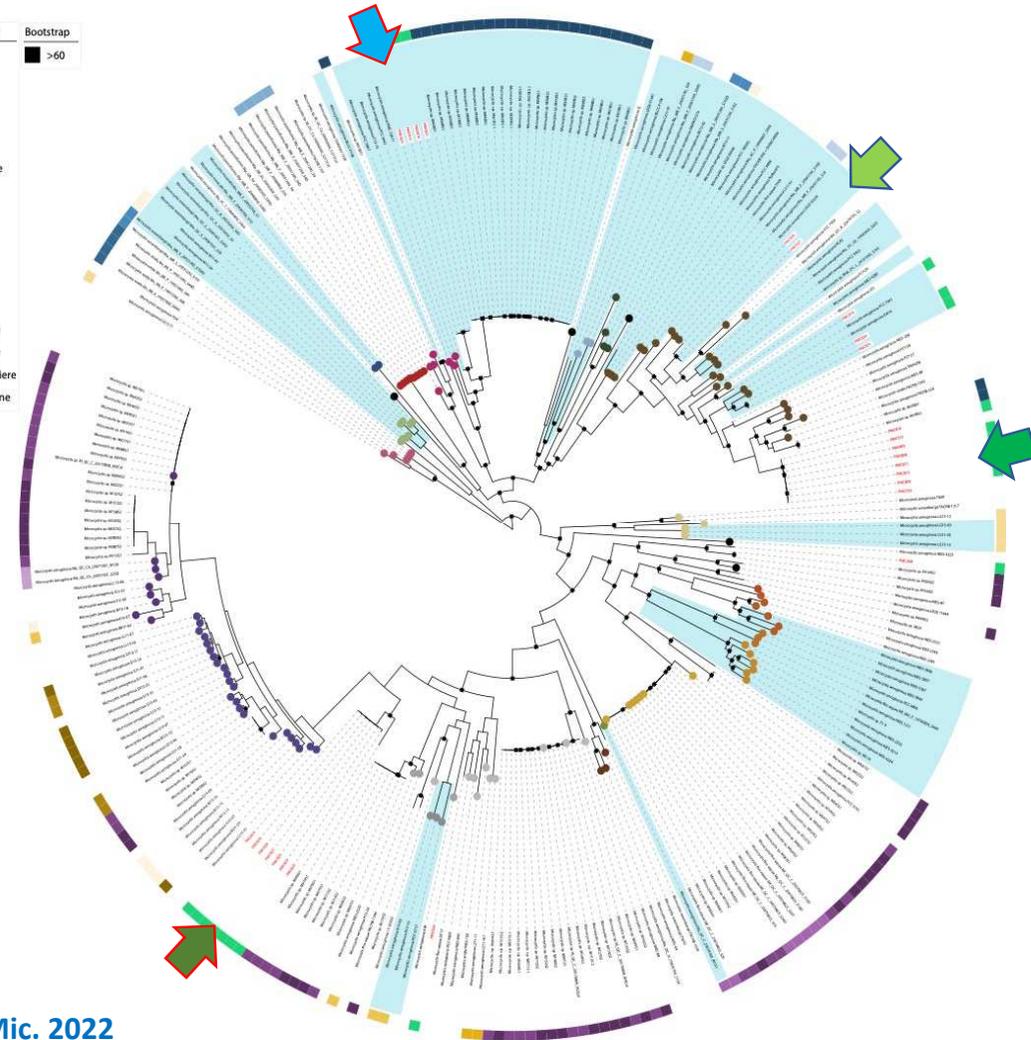
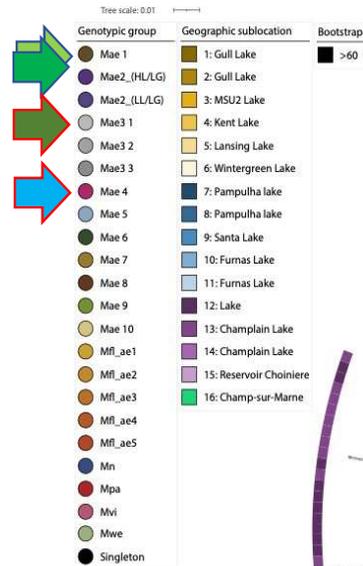
## 4 *Microcystis* mono-clonale strains from MNHN's collection



- PMC 728 (MC+)
- PMC 807 (MC+)
- PMC 810 (MC-)
- PMC 826 (MC-)



## *Microcystis* phylogenomics (80 genes)



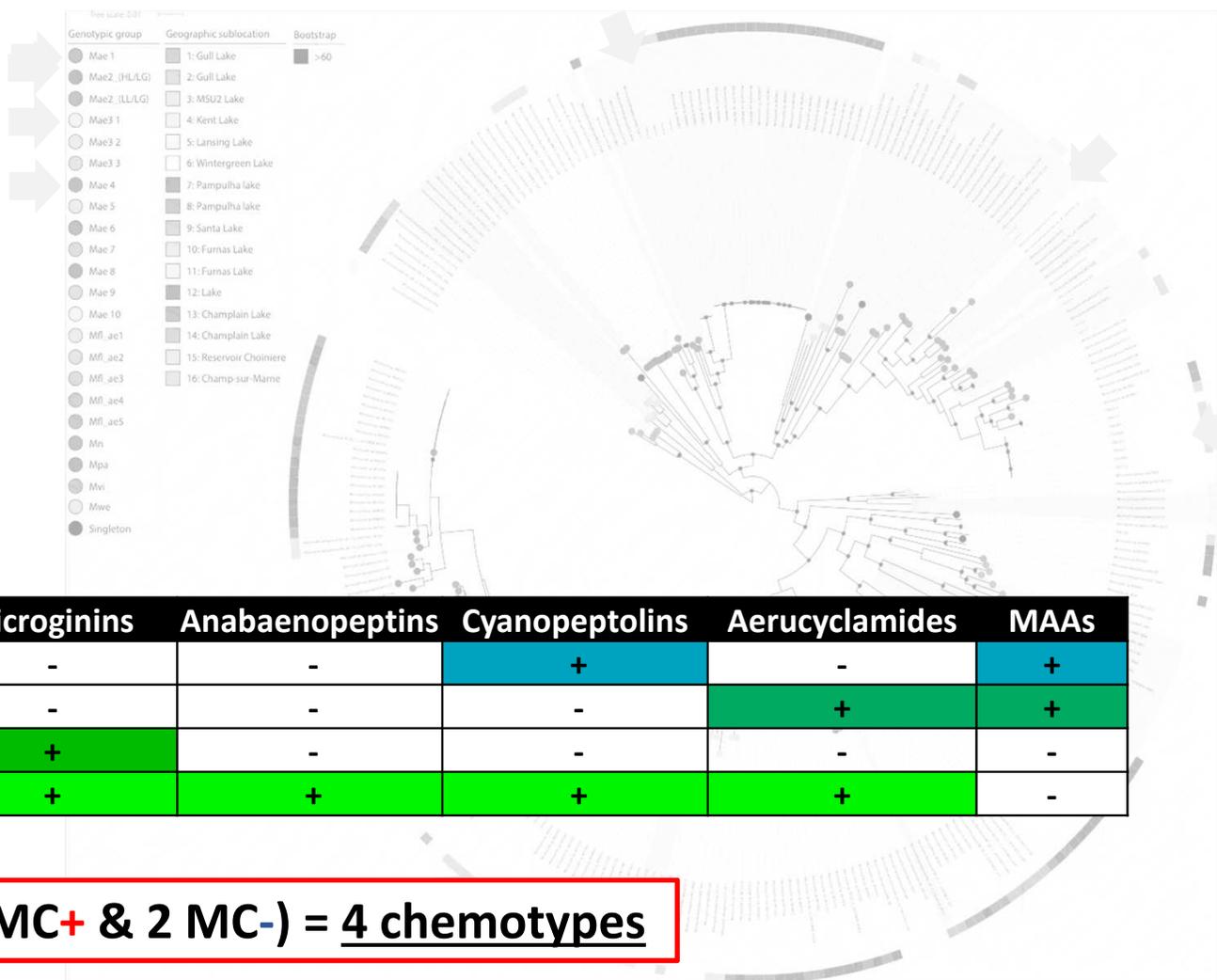
## Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

### 4 *Microcystis* mono-clonale strains from MNHN's collection



- PMC 728 (MC+)
- PMC 807 (MC+)
- PMC 810 (MC-)
- PMC 826 (MC-)

### *Microcystis* phylogenomy (80 genes)



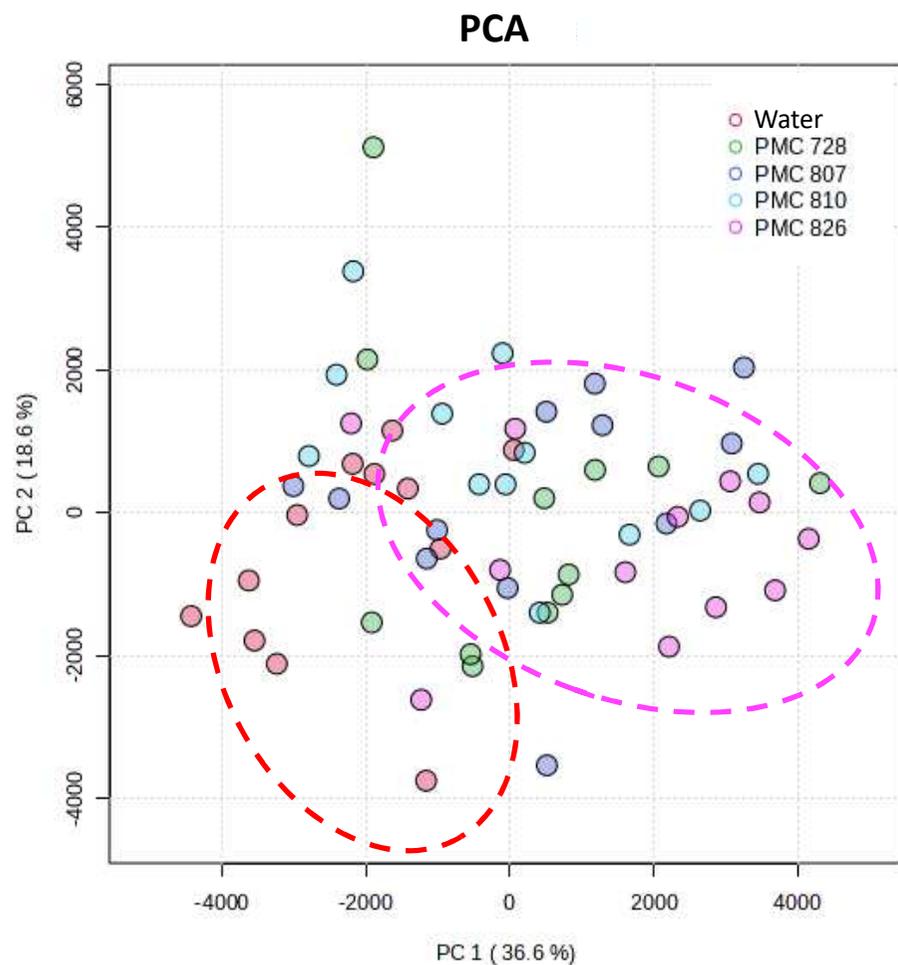
### Biosynthetic Gene Cluster contents

	Microcystins	Aeruginosins	Microginins	Anabaenopeptins	Cyanopeptolins	Aerucyclamides	MAAs
PMC 728	+	+	-	-	+	-	+
PMC 807	+	+	-	-	-	+	+
PMC 810	-	+	+	-	-	-	-
PMC 826	-	+	+	+	+	+	-

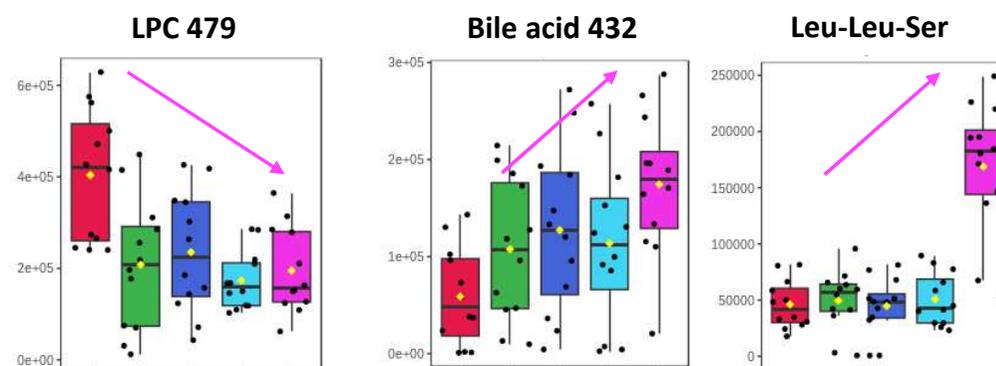
**4 different strains = 4 genotypes (2 MC+ & 2 MC-) = 4 chemotypes**

## Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

### Composition du métabolome intestinal (204 métabolites annotés)



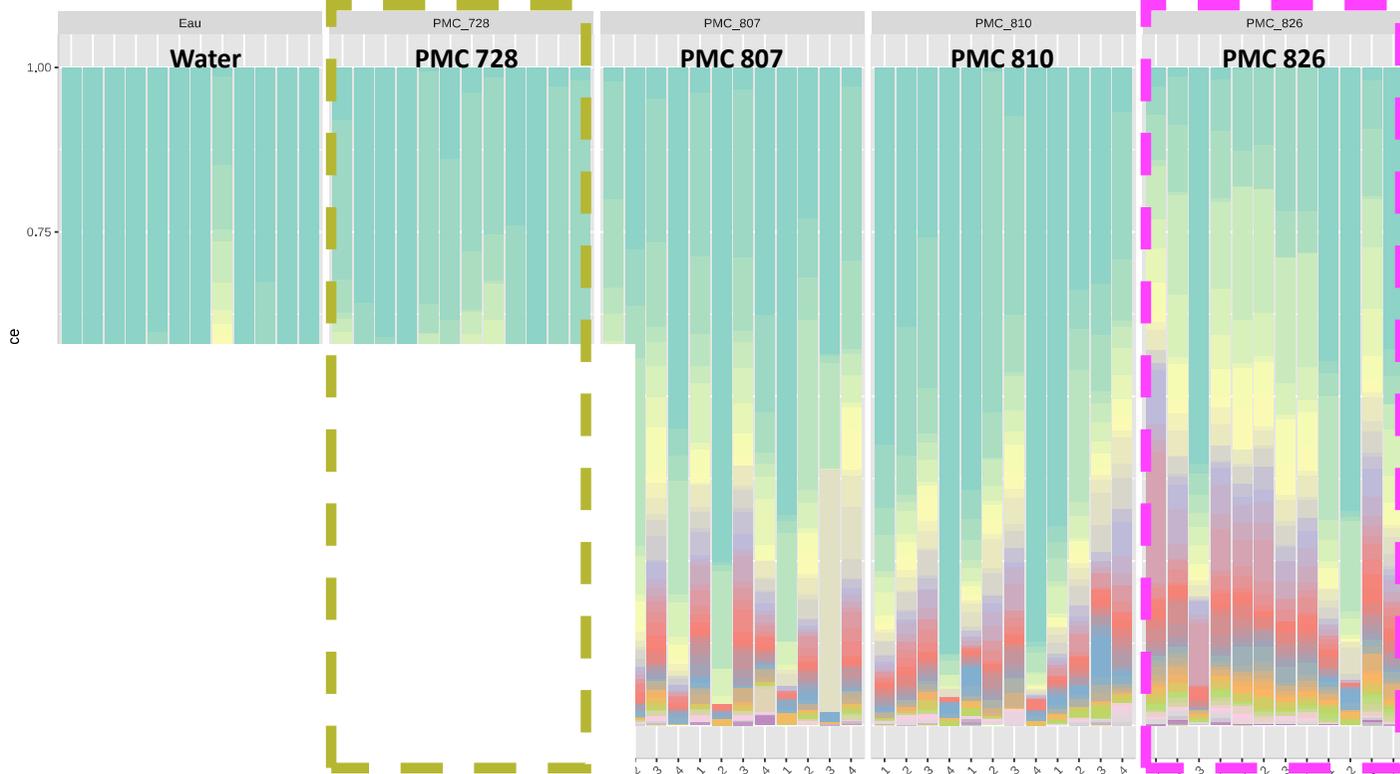
### Exemples représentatifs de VIP (PLS-DA)



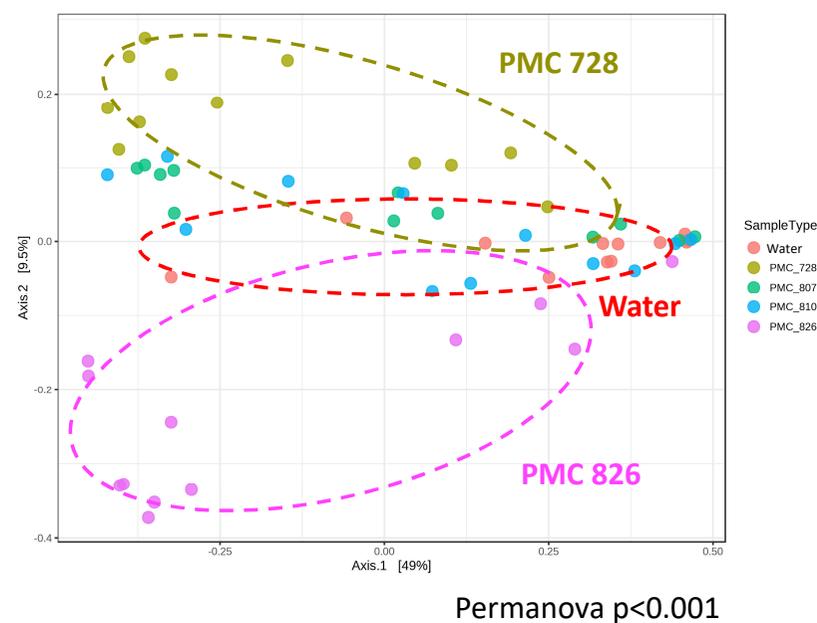
**=> PMC 826 (MC-) induit des variations plus prononcées des quantités relatives de certains métabolites** (Permanova  $p < 0.001$ )

# Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

## Composition du microbiote intestinal (métabarcoding 16S)



## Beta-Diversity (PCoA Bray Curtis)



- |                |                               |                   |                 |                |
|----------------|-------------------------------|-------------------|-----------------|----------------|
| Cetobacterium  | Rosea                         | Mitochondria      | Pseudomonas     | Norank         |
| Gemmobacter    | Microcystis_PCC_9314          | Oxoid/NOR1_Ustide | Neoschmidia     | Janibacter     |
| Mut_gingivad   | Escherichia                   | Brevibacterium    | Coriobacter     | Bacillus       |
| ZOR006         | Methylobacterium_methyloburum | Fitribriobus      | Dorssia         | Mammococcus    |
| Hymenocobutium | Reynoldsia                    | Paracoccus        | Verruiphilaceae | Staphylococcus |
| Uncultured     | Shewanella                    | Vibrio            | Planctopila     | Silvaninas     |
| Aeromonas      | Pseudomonas                   | Citrobacter       | Jania           | Citrobacterium |
| Phodococcus    | Nitrososphaera                | SO29_PCC_2445     | Chromobacter    | Rhodococcus    |
| Legionella     | Gordonia                      | Pseudomonas       | Alga            | Blasomonas     |
| Proteobacteria | Flavobacterium                | Pseudomonadiales  | Azotomonas      | Bacteroides    |
| Microbacterium | Solirubra                     | Epulissium        | Timonella       | UBA12409       |
| Parabacterium  | Micromonospora                | anthonia          | Brucella        | Streptococcus  |
| Mycobacterium  | Mycobacteriales               | Agrobacterium     | Flavobacterium  | Caldiva        |
| Thermoplasma   | Thermoplasma                  | Adhaerans         | Lactobacillus   | EVB19SVSA99    |
| Micrarchaeota  | Enitococcus                   | Althobacter       | Tumbrina        | Chloroflexus   |
| Flavobacterium | Methylobacterium              | Roseosphaera      | Bradyrhizobium  | Others         |
| SH_L14         | PM2_1000                      | Porosira          | Porosira        |                |

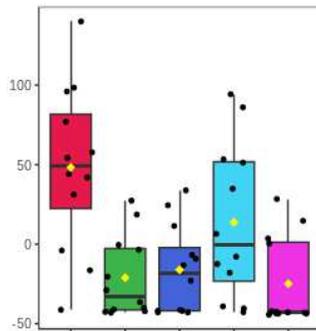
**Les souches PMC 728 (MC+) & PMC 826 (MC-) impactent de manière significative la composition du microbiote intestinal, mais de manière nettement différente**

# Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

## Variations spécifiques de certains taxa bactériens

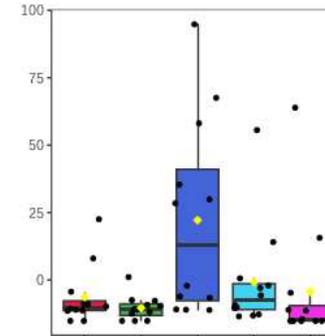
- Water
- PMC 728
- PMC 807
- PMC 810
- PMC 826

*Cetobacterium*



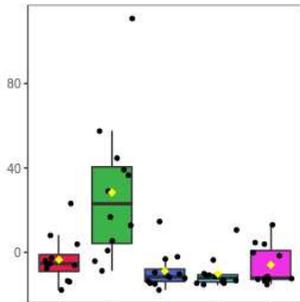
« Core microbiome »

ZOR0006 (Firmicutes)

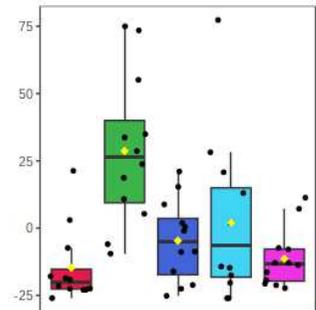


« Symbiontes »

*Aeromonas*

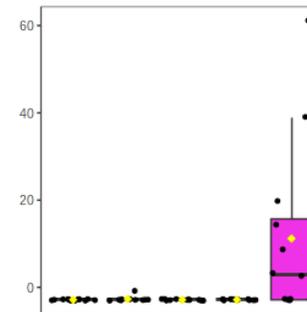


*Gemmobacter*

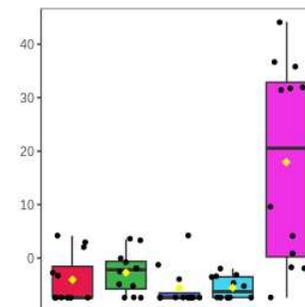


« Pathogens »

*Microcystis*



*Hyphomicrobium*



« Culture de *Microcystis* »

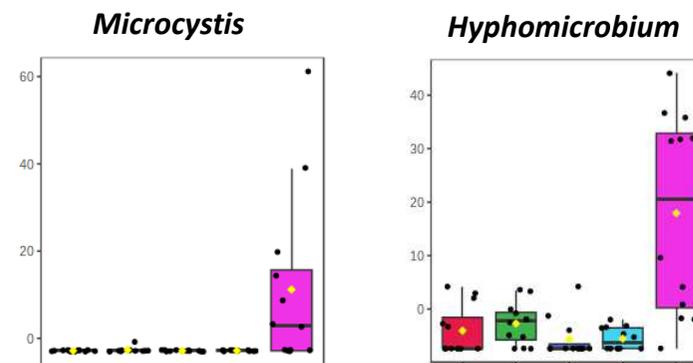
Réponses spécifiques du microbiote intestinal aux différentes souches de *Microcystis*

## Etude 3 : Effets moléculaires précoces d'exposition à différentes souches de *Microcystis*

*Intestin de poissons exposés à la souche PMC 826*



Potentiels effets de perturbation de la digestion par la souche PMC 826...

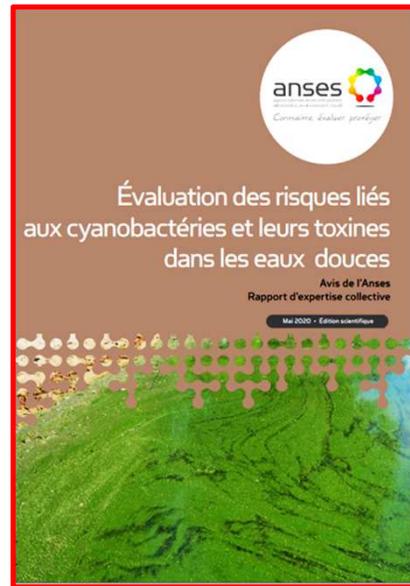


« Culture de *Microcystis* »

## CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

- > Consommation active des cellules de *Microcystis* par les poissons Médaka  
=> *Quid des autres espèces de poissons ?*
- > Souche PMC 728 induit une diminution de la bactérie ZOR0006 (symbionts)  
=> *Potentiels anti-bactériens ?*
- > Souche PMC 826 induit une grande amplitude d'effets (métabolome et microbiome)  
=> *Potentiels inhibiteurs de digestion ?*

*Répercussions sur l'exposition  
et la contamination des  
poissons aux cyanotoxines?*



RQ : étude poussée de la bibliographie n'a pas pu mettre en avant de relation entre efflorescences/production de cyanotoxines et contamination des chairs des poissons

## CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

- > Consommation active des cellules de *Microcystis* par les poissons Médaka  
=> *Autres espèces de poissons ?*
- > Souche PMC 728 induit une diminution de la bactérie ZOR0006 (symbionts)  
=> *Anti-bactériens ?*
- > Souche PMC 826 induit une grande amplitude d'effets (métabolome et microbiome)  
=> *Potentiels inhibiteurs de digestion ?*

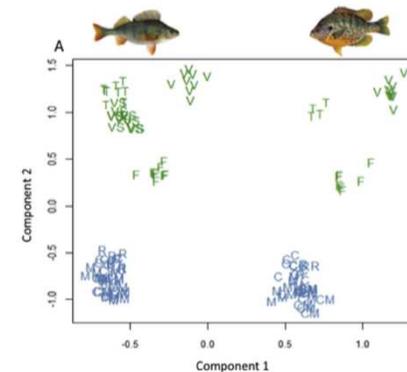
> Les souches MC+ and MC- de *Microcystis* induisent des effets hépatiques et intestinaux chez le Médaka

=> *Quant est-il des poissons des milieux naturels impactés par les cyanobactéries?*

*Effets moléculaires (métabolomes hépatiques de perches en IdF)*

=> *Nouveaux projets en développement*  
(ANR Com2Life...)

Sotton et al 2019  
Marie & Gallet 2022



# REMERCIEMENTS

## UMR 7245 MCAM (MNHN/CNRS) :



<Séverine le Manach

Alison Gallet>



<Pierre Foucault

Simon Colas>



<Eglantine Soubrand

Manon Quiquand>



<Charlotte Duval

Sébastien Halary >



<Sébastien Duperron

Hélène Huet>



<Cécile Bernard



## MNHN :

*Collection de cyanobactéries*



*Service phycologie*



*Animalerie Médaka*



*Plateaux techniques*



## Financements:



CNRS



MNHN

ANR



**MERCI pour votre attention !**

