

État de l'art – Rôle du microbiote et mesure de méthane en milieu aquatique

A l'image de l'IPBES, la Plateforme Intergouvernementale scientifique et politique sur la Biodiversité et les Services Écosystémiques qui se réunit à Paris du 29 avril au 4 mai 2019, les questions sur l'état de la biodiversité associée aux actions anthropiques internationales se font de plus en plus pressantes. Le système climatique est fluctuant, mais les prédictions liées aux hausses de température actuelles montrent une rapidité croissante de ces variations.

Ce réchauffement climatique est principalement lié aux Gaz à Effet de Serre (GES), relatifs aux activités expansives anthropogéniques notamment dans la production industrielle, l'agriculture intensive, l'élevage industriel et l'aquaculture (Yang et al. 2018).

Le drainage des sols, l'utilisation de fertilisants synthétiques afin d'améliorer les rendements de l'agriculture ainsi que le traitement des eaux et les rejets urbains entraînent un apport excessif de nutriments dans les systèmes aquatiques, provoquant l'eutrophisation du milieu. Cet apport de nutriments peut mener à une efflorescence algale qui deviendra une source de matière organique abondante pour les organismes hétérotrophes. Ces organismes photosynthétiques vont consommer la majorité du dioxygène disponible et rendre le milieu hypoxique. Cette altération des processus géochimiques aquatiques provoque un excès de nutriments dans les systèmes aquatiques qui pourraient contribuer à 10% des émissions globales de GES (Davidson et al. 2015; Bonaglia et al. 2017).

Les trois sources de GES qui ont une influence significative sur le climat sont le dioxyde de carbone (CO_2), le protoxyde d'azote (N_2O) et le méthane (CH_4) avec 80% de l'effet total (Zhu et al. 2016). En sciences environnementales, ces gaz sont caractérisés principalement par leur concentration, et comparées via le calcul de leur Potentiel de Réchauffement Global (PRG). Ainsi, le méthane et le protoxyde d'azote, bien qu'en concentration inférieure au dioxyde de carbone, ont un PRG supérieur à celui du carbone, avec un facteur de 28 pour le méthane et de 265 pour le protoxyde d'azote (Bonaglia et al. 2017).

Pour le N_2O en milieu aquatique, certaines études récentes estiment qu'il serait responsable à 20% des rejets au niveau des littoraux. Concernant le CH_4 , il n'y a pas de consensus car la source et la variabilité des systèmes demeurent incertaines, dû aux paramètres géomorphologiques, à la maturité des systèmes aquatiques, à la salinité du milieu et à la composition géochimique du sédiment (Jeffrey et al. 2019).

Le méthane est un composant clé du cycle carbone qui est produit majoritairement de source biogénique par l'activité des méthanogènes. Il provient également de source thermogénique, depuis les sous-sols où il est évacué à l'aide de processus géologiques du sédiment jusqu'à son évaporation dans l'atmosphère. Enfin, la troisième source est pyrogénique via la combustion incomplète de biomasse comme lors de feux de forêts (Kirschke et al. 2013).

Les archaea méthanogènes contribuent fortement aux émissions de GES par la formation de méthane. En vivant strictement en milieu anaérobique, elles sont présentes dans la majorité des systèmes aquatiques (zones humides, marais, rizières, barrages, lacs étangs, mers, océans) mais aussi dans les dépôts d'ordures, les tapis d'algues en décomposition, les sources chaudes et dans certains systèmes digestifs, notamment ceux des termites et des ruminants (Evans et al. 2019). Cette très large distribution dépend de facteurs abiotiques : température, pH, salinité et influence la manière dont ces archaea vont former du méthane. 80% sont hydrogénotrophes et utilisent le dihydrogène (H₂) pour réduire du dioxyde de carbone, 11% sont acétoclastes, elles produisent du méthane à partir de l'acétate, 26% sont métylotrophes et utilisent des composés méthyles. Mais certaines archaea ne sont pas strictement associées à un type de transformation de méthane comme les hydrogénométhylotrophes qui utilisent du H₂ pour réduire du méthanol en méthane. L'avancée des technologies de séquençage d'ADN et notamment la découverte des séquences du gène de l'ARN ribosomique 16S ont permis de profondément revisiter la taxonomie des bactéries et en 1990, Carl Woese et ses collègues ont proposé de regrouper les êtres vivants sous trois domaines : Eucarya, Bacteria et Archaea. Puis, la découverte du gène *mcrA*, dont l'activité enzymatique est essentielle dans la méthanogénèse, a également modifié la taxonomie des archaea méthanogènes. D'autres gènes ressemblant au gène *mcrA* ont été découverts chez d'autres types d'archaea, permettant de métaboliser d'autres molécules (Garcia et al 1998; Evans et al. 2019).

Les puits et sources à l'origine des échanges de CH₄ sont moyennement connus, et de nombreuses modélisations ont vu le jour pour tenter de prédire si les écosystèmes permettront d'absorber ou de rejeter ces gaz.

En 2013, une étude en Inde sur l'effet de quatre espèces de poissons (*Cirrhinus mrigala* H., *Labeo rohita*, *H. Cyprinus, carpio* L., et *Catla catla* H.) dans un système d'élevage rizicole montre que la présence de poissons augmente significativement les émissions de méthane au niveau de rizières. En utilisant une technique d'enceinte sous vide *in situ* combinée à une pompe de circulation d'air et un échantillonnage durant plusieurs mois, ils ont observé les différences de concentration de méthane sur plusieurs parcelles ainsi que le développement des plants associés. Ils présentent un compromis entre une augmentation des émissions de GES d'une part, et une amélioration du rendement des rizières en présence de poissons d'autre part (Bhattacharyya et al. 2012, 2013).

Une seconde étude en 2014 propose d'étudier la méthanogénèse en milieu aérobie, en prenant comme lieu d'étude le lac Cromwell à Montréal. Les chercheurs utilisent ici aussi une enceinte sous vide et une analyse de Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) afin de mesurer les différentes émissions de méthane. Ils effectuent également une analyse isotopique au carbone 13 en prélevant des échantillons à 25cm de profondeur. Leurs résultats indiquent que la source de méthanogénèse pélagique est majoritairement d'origine acétoclastique en lien avec la dynamique des algues (Bogard et al. 2014).

En 2017, une équipe de l'université de Stockholm propose une méthode d'étude en microcosme, avec ou sans présence d'individus polychètes (*Marenzelleria arctica*) et bivalves (*Limecola balthica*) provenant de deux sites côtiers de la mer Baltique. Ils démontrent ainsi un

effet indirect de la présence de polychètes par bioturbation (mélange actif du sédiment), et un effet direct des bivalves sur la production de méthane, via leur activité microbienne. Pour mesurer les échanges de méthane, ils échantillonnent dans un premier temps « l'espace de tête », ou « headspace » des flacons prélevés sur les microcosmes et utilisent la CPG afin de mesurer les concentrations de méthane. Puis ils utilisent une analyse isotopique de carbone 13, produit de l'oxydation du méthane, afin de déterminer les différentes sources de production de méthane associées au microbiote intestinal des bivalves avec un chromatographe et un spectromètre. Enfin, ils utilisent une méthode de réaction en chaîne par polymérase (qPCR) pour quantifier les méthanogènes du système digestif, après extraction puis amplification du gène *mcrA*. Les résultats montrent une augmentation significative du méthane produit par la macrofaune ainsi qu'une forte variabilité individuelle qui pourrait s'expliquer par la différence des archaea méthanogènes retrouvées par analyse ADN (Bonaglia et al. 2017).

Enfin, trois équipes chinoises ont étudié l'influence de la présence de plusieurs espèces de crevettes (*Marsupenaeus japonicus*), de concombres de mer (*Apostichopus japonicus*) et de poissons (*Megalobrama amblycephala*) en 2016 et 2018 sur les émissions de GES. Chaque étude utilise des enceintes sous vide *in situ* et une technique de CPG pour mesure les flux de CO₂, N₂O et CH₄. Les chercheurs montrent un effet significatif de la présence des espèces sur les rejets de GES qui dépend de leur apport nutritif, de la température de l'eau et de l'air et de la salinité, démontrant l'importance de l'aquaculture en tant que source à effet de serre et contribuant au réchauffement climatique (Chen et al. 2016; Zhu et al. 2016; Yang et al. 2018).

Ces travaux montrent un exemple du panel de méthodes utilisées pour quantifier le méthane produit et qualifier la diversité du microbiote. D'autres études ont également montré une grande diversité du microbiote cutané (Chiarello et al. 2018), de l'influence du microbiote sur le système immunitaire (Friberg et al. 2019) ainsi que de l'importance du microbiote intestinal (Talwar et al. 2018).

Chez les mammifères terrestres, le microbiome est très étudié (Heijtz et al.; Sampson and Mazmanian 2015), en revanche, chez les vertébrés aquatiques, il est largement méconnu. Pourtant, les poissons représentent une part importante de la biomasse aquatique et une grande diversité, des espèces étant en voie d'extinction alors que d'autres font partie de centres d'élevage intensifs (60 millions t / an). L'action anthropique est en partie responsable de la modification de cette biodiversité via la destruction de leur habitat, la pêche intensive et la fertilisation des sols (da Silva et al. 2018).

Il semble donc intéressant de comparer deux espèces au régime alimentaire différent comme la saupe (*Sarpa salpa*) qui se nourrit principalement d'herbiers de posidonies, ou le mullet (*Chelon labrosus*) qui préfère le plancton, les invertébrés et les algues (Metral & Brisset, 2011). Ces deux espèces méditerranéennes permettront d'étudier leur différences taxonomiques et fonctionnelles au niveau du microbiote intestinal afin d'appréhender comment l'hôte et les symbiotes interagissent et quelle est l'influence de leur interaction sur les flux biogéochimiques en milieu aquatique.

Bibliographie

- Bhattacharyya P, Roy KS, Neogi S, et al (2012) Effects of rice straw and nitrogen fertilization on greenhouse gas emissions and carbon storage in tropical flooded soil planted with rice. *Soil Tillage Res* 124:119–130. doi: 10.1016/j.still.2012.05.015
- Bhattacharyya P, Sinhababu DP, Roy KS, et al (2013) Effect of fish species on methane and nitrous oxide emission in relation to soil C, N pools and enzymatic activities in rainfed shallow lowland rice-fish farming system. *Agric Ecosyst Environ* 176:53–62. doi: 10.1016/j.agee.2013.05.015
- Bogard MJ, del Giorgio PA, Boutet L, et al (2014) Oxidic water column methanogenesis as a major component of aquatic CH₄ fluxes. *Nat Commun* 5:. doi: 10.1038/ncomms6350
- Bonaglia S, Brüchert V, Callac N, et al (2017) Methane fluxes from coastal sediments are enhanced by macrofauna. *Sci Rep* 7:. doi: 10.1038/s41598-017-13263-w
- Chen Y, Dong S, Wang F, et al (2016) Carbon dioxide and methane fluxes from feeding and no-feeding mariculture ponds. *Environ Pollut* 212:489–497. doi: 10.1016/j.envpol.2016.02.039
- Chiarello M, Auguet J-C, Bettarel Y, et al (2018) Skin microbiome of coral reef fish is highly variable and driven by host phylogeny and diet. *Microbiome* 6:. doi: 10.1186/s40168-018-0530-4
- da Silva MG, Packer AP, Sampaio FG, et al (2018) Impact of intensive fish farming on methane emission in a tropical hydropower reservoir. *Clim Change* 150:195–210. doi: 10.1007/s10584-018-2281-4
- Davidson TA, Audet J, Svenning J-C, et al (2015) Eutrophication effects on greenhouse gas fluxes from shallow-lake mesocosms override those of climate warming. *Glob Change Biol* 21:4449–4463. doi: 10.1111/gcb.13062
- Evans PN, Boyd JA, Leu AO, et al (2019) An evolving view of methane metabolism in the Archaea. *Nat Rev Microbiol*. doi: 10.1038/s41579-018-0136-7
- Friberg IM, Taylor JD, Jackson JA (2019) Diet in the Driving Seat: Natural Diet-Immunity-Microbiome Interactions in Wild Fish. *Front Immunol* 10:. doi: 10.3389/fimmu.2019.00243
- Garcia J-L Les bactéries méthanogènes (1998) The methanogenic archaea. *C.R Acad Agric.Fr.* 84 p.23-33.

- Heijtz RD, Wang S, Anuar F, et al Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. 6
- Jeffrey LC, Maher DT, Johnston S, et al (2019) Rhizosphere to the atmosphere: contrasting methane pathways, fluxes and geochemical drivers across the terrestrial-aquatic wetland boundary. *Biogeosciences Discuss* 1–33. doi: 10.5194/bg-2019-11
- Kirschke S, Bousquet P, Ciais P, et al (2013) Three decades of global methane sources and sinks. *Nat Geosci* 6:813–823. doi: 10.1038/ngeo1955
- Metral L, Brisset B (2011) Fiches pratiques d'aide à l'identification des espèces marines de Méditerranée occidentale. Ifremer V2.2 (version Jan2011)
- Sampson TR, Mazmanian SK (2015) Control of Brain Development, Function, and Behavior by the Microbiome. *Cell Host Microbe* 17:565–576. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.011
- Talwar C, Nagar S, Lal R, Negi RK (2018) Fish Gut Microbiome: Current Approaches and Future Perspectives. *Indian J Microbiol* 58:397–414. doi: 10.1007/s12088-018-0760-y
- Yang P, Zhang Y, Lai DYF, et al (2018) Fluxes of carbon dioxide and methane across the water–atmosphere interface of aquaculture shrimp ponds in two subtropical estuaries: The effect of temperature, substrate, salinity and nitrate. *Sci Total Environ* 635:1025–1035. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.102
- Zhu L, Che X, Liu H, et al (2016) Greenhouse gas emissions and comprehensive greenhouse effect potential of *Megalobrama amblycephala* culture pond ecosystems in a 3-month growing season. *Aquac Int* 24:893–902. doi: 10.1007/s10499-015-9959-7