



Projet ECOEST: Diagnostic sur l'état écologique des estuaires bretons & Production de marqueurs pour la gestion des hydrosystèmes

Rapport final (Juin 2025)

Jean LAROCHE, Jennifer LAURENT, Vianney PICHEREAU, Stéphane Le FLOCH

avec la contribution de :

Iwan Le Berre, Jean Armengaud, Matthieu Waeles, Simon Devin, Jocelyn Hiliou,
Mélanie Baric, Alexia Rivallin, François Le Guern



Remerciements

Le projet ECOEST a été développé grâce au soutien financier de l'Agence de l'Eau Loire - Bretagne. Le laboratoire LEMAR UMR 6539 (Institut Universitaire Européen de la Mer à Plouzané, Université de Bretagne Occidentale) a assuré la conception, le portage, l'animation et la coordination du projet, en liens avec le CEDRE (Brest). Un co-portage de ECOEST a été développé avec différents SAGE de la Région Bretagne : les SAGE Léon-Trégor, Bas Léon et Aulne, qui ont soutenu le projet par le partage de leurs connaissances approfondies sur les bassins versants.

Nous remercions vivement les collectivités locales, gestionnaires de milieux naturels, associations et scientifiques, pour les nombreux échanges et leurs soutiens lors des actions de terrain : Syndicat Mixte de l'Horn, SAGE Sud Cornouaille, Quimperlé communauté, SAGE Scorff (bseil), SAGE Pays de Saint Briec, Lamballe-Terre-Mer, AAPPMA de Morlaix et de Saint Pol de Léon, Réserves Naturelles des Marais de Séné et de la Baie de Saint Briec, Station de contrôle des poissons migrateurs (INRAe Scorff). Un grand merci aussi à Jacques Grall (IUEM), pour ses connaissances pointues sur les écosystèmes côtiers bretons qui nous ont permis de retenir des hydrosystèmes contrastés pour le projet ECOEST, ainsi qu'à Yves-Marie Héno (OFB - Direction Régionale Bretagne) pour avoir mis à notre disposition un ensemble très complet de données hydrobiologiques sur les fleuves côtiers bretons. Enfin, tous nos remerciements à Pierre Brigode (ENS - Géosciences Rennes) qui nous a permis de mener une première exploration sur la variabilité hydroclimatique interannuelle en Bretagne, et à Gaël Durand (LABOCEA) & Guy Le Hénaff pour leurs connaissances sur l'analyse et les usages des pesticides dans les bassins versants bretons.

Liste et affiliations des auteurs

Coordinateurs :

- Jean Laroche, UMR 6539 LEMAR, IUEM, UBO
- Jennifer Laurent, UMR 6539 LEMAR, IUEM, UBO
- Vianney Pichereau, UMR 6539 LEMAR, IUEM, UBO
- Stéphane Le Floch, CEDRE

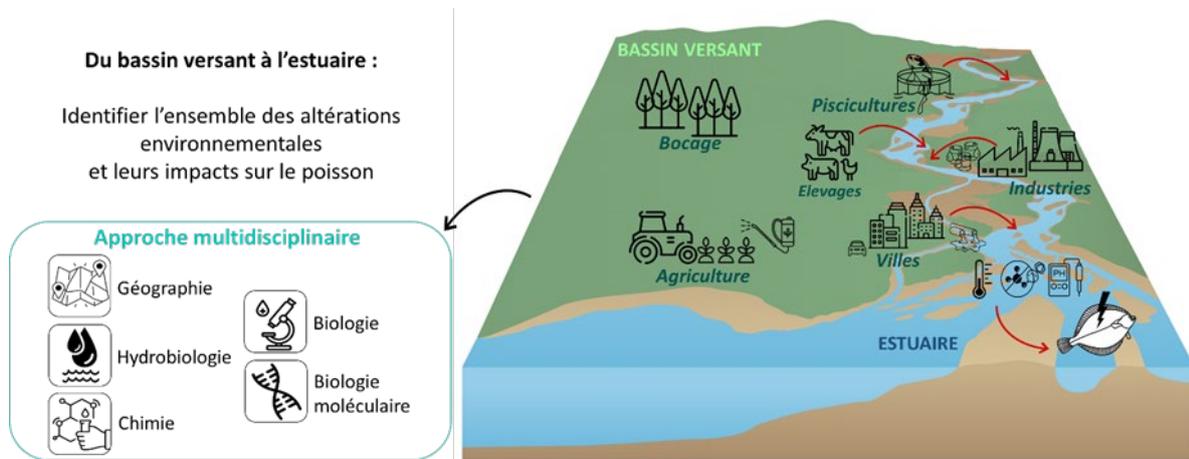
Participants :

- Iwan Le Berre, UMR 6554 LETG-Brest GEOMER, IUEM, UBO
- Jean Armengaud, Li2D, CEA, INRAe, Bagnols sur Cèze
- Matthieu Waeles, UMR 6539 LEMAR, IUEM, UBO
- Simon Devin, UMR 7360 LIEC, Université de Lorraine
- Jocelyn Hiliou, SAGE Léon-Trégor
- Mélanie Baric, SAGE Bas Léon
- Alexia Rivallin et François Le Guern, SAGE Aulne

Proposition de citation :

Laroche J., Laurent J., Pichereau V., Le Floch S., Le Berre I., Armengaud J., Waeles M., Devin S., Hiliou J., Baric M., Rivallin A., Le Guern F. (2025). Projet ECOEST : Diagnostic sur l'état écologique des estuaires bretons et production de marqueurs pour la gestion des hydrosystèmes. Rapport de recherche LEMAR-UBO & CEDRE, Agence de l'Eau Loire - Bretagne.

Résumé



Dans le projet ECOEST, une approche multidisciplinaire a été conduite dans onze fleuves côtiers bretons présentant des niveaux d'anthropisation contrastés. Ce travail a intégré la géographie des bassins versants, l'hydrobiologie, la chimie des polluants, les réponses physiologiques et moléculaires d'un poisson estuarien, le flet (*Platichthys flesus*).

Nous avons mis en évidence dans ce projet :

- * la nature et le niveau d'anthropisation des bassins versants (en estimant différentes métriques géographiques par les SIG, sur l'occupation et les usages des sols: état du bocage et de la ripisylve, proportions en surface agricole, en surface naturelle, densité de population,...) ;
- * son impact sur la qualité physico-chimique des eaux de surface (charges en azote inorganique, teneurs en pesticides), et sur les teneurs en polluants métalliques et organiques dans les sédiments estuariens et dans le poisson;
- * les conséquences sur le biote, à travers différentes signatures biologiques observées chez le flet.

L'intégration de ces résultats nous a permis de décrire une première typologie des fleuves côtiers. Nous avons ainsi identifié : (1) différents stressés environnementaux dans ces écosystèmes, (2) le système le moins impacté par les multiples stressés, que nous avons considéré comme un « système de référence » dans la suite de nos travaux.

Nous avons conduit ensuite une analyse sur les réponses moléculaires du flet aux stressés, par la protéomique haut débit développée sur le foie, un organe d'importance majeure pour la gestion énergétique, les processus de détoxification, et de multiples voies métaboliques. Ces analyses en protéomique sur le flet ont conduit à une amélioration très significative de l'identification des principaux stressés dans les hydrosystèmes.

Nous proposons au final une série de marqueurs pour le diagnostic de l'état de santé des hydrosystèmes qui pourraient devenir à terme des outils d'aide à la décision, pour les gestionnaires impliqués dans le suivi des fleuves côtiers bretons.

Projet ECOEST: Diagnostic sur l'état écologique des estuaires bretons & production de marqueurs pour la gestion des hydrosystèmes

Rapport final (Juin 2025)

Sommaire

1. Introduction	5
2. Présentation du projet.....	6
3. Méthodologie et mise en œuvre du projet.....	10
4. Usage des sols dans les bassins versants.....	13
5. Analyses hydrobiologiques, chimiques & signatures environnementales.....	15
6. Intégration des données (géographie, hydrobiologie, chimie des polluants et des éléments traces, biologie du flet).....	37
7. Pouvoir discriminant de la géographie, chimie et biologie du flet, sur le classement des hydrosystèmes.....	39
8. Recherche sur les réponses moléculaires du flet aux multiples stressés estuariens, par la protéomique haut débit sur le foie.....	42
9. Typologie des hydrosystèmes ECOEST revisitée avec les apports de la protéomique sur le flet..	54
10. Potentiel de l'analyse des acides gras du muscle de flet, pour évaluer l'état de santé des hydrosystèmes.....	59
11. Métriques pour le diagnostic de l'état de santé des hydrosystèmes bretons.....	68
12. Conclusions & Perspectives sur la biosurveillance dans les fleuves côtiers bretons.....	72
13. Références.....	74
14. Annexes.....	91

1. Introduction

1.1 Collaboration scientifique

Depuis 2000, le LEMAR développe des recherches sur la qualité écologique des systèmes estuariens, diagnostiquée à partir des réponses biologiques d'un poisson plat estuarien (le flet) aux stressseurs environnementaux (eutrophisation, hypoxie, contamination chimique par les métaux-pesticides-hydrocarbures-PCBs) (Marchand et al. 2004 ; Laroche et al. 2013 ; Dupuy et al. 2015 ; Galland et al. 2015, Borcier et al. 2016, Pédrón et al. 2017 ; Borcier et al. 2019, 2020 ; Laurent et al. 2022). De 2018 à 2021, le projet OFB-POPEST, orienté sur cinq petits estuaires bretons, a permis de mettre en vis-à-vis : des altérations moléculaires et physiologiques du flet (LEMAR), une approche géographique de l'occupation et des usages sur des bassins versants par SIG (LETG), et une analyse de la contamination chimique dans le biote et les sédiments (CEDRE). Ce projet POPEST a clairement mis en évidence que le flet est un très bon enregistreur de la qualité des masses d'eau dans les petits estuaires bretons.

Le projet ECOEST s'inscrit donc pleinement dans le cadre de cette collaboration éprouvée entre les trois laboratoires LEMAR, CEDRE & LETG. Dans ce nouveau projet, nous avons élargi notre approche pluridisciplinaire pour dégager une vision approfondie de l'état écologique de onze hydrosystèmes bretons qui présentent des situations environnementales très contrastées (Gouessant, Penzé, Horn, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven, Scorff, Noyal).

1.2 Partenaires gestionnaires des hydrosystèmes

La mise en œuvre de notre projet précédent OFB-POPEST nous a permis de développer, de 2020 à 2021, une collaboration avec différents SAGE de la Région Bretagne, suite à des discussions confrontant les résultats scientifiques de notre approche pluridisciplinaire, avec les connaissances fines sur les bassins versants et sur la qualité des eaux développées par ces structures. Des relations privilégiées ont été développées particulièrement avec trois SAGE (SAGE du Léon-Trégor, du Bas Léon, de l'Aulne), qui ont été naturellement intégrés dans le nouveau projet ECOEST.

SAGE Léon-Trégor

Le Schéma d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SAGE) Léon-Trégor était un des 3 partenaires du projet POPEST aux côtés des SAGE Bas Léon et Aulne depuis 2020. A l'heure de l'adoption du projet ECOEST par les territoires, la Commission Locale de l'Eau de ce SAGE a acté le coportage du projet avec le laboratoire LEMAR.

Ce SAGE considère que ECOEST est bien un projet à la croisée entre la théorie et la pratique, qui vise l'estuaire en tant que milieu intégrant une grande partie des pressions anthropiques sur les bassins versants, à travers la qualité de ses eaux, avec des enjeux parfois majeurs dans la partie aval comme les activités conchylicoles. Le coportage du projet ECOEST entre en adéquation avec l'objectif transversal de mutualisation et de partenariat du SAGE Léon-Trégor. Dans ce cadre, les interactions à la croisée entre le monde scientifique et les acteurs de terrain représentent une richesse partagée par tous. Par ailleurs, les deux estuaires étudiés par ECOEST sur le territoire du SAGE Léon Trégor, La Penzé (FRGT07) et l'Horn (FRGR0057 et FRGC12) sont déclassés par le SDAGE en raison notamment de fortes concentrations en

nutriments et de par la prolifération d'algues vertes (ulves). Aussi les travaux scientifiques sur ces hydrosystèmes sont fortement souhaités.

Le SAGE Léon-Trégor relève un impératif d'amélioration de la qualité de l'eau à l'exutoire des bassins versants notamment de Horn-Guillec et Penzé, la nécessité de produire de nouveaux indicateurs de qualité, et de mieux connaître les pesticides et leurs usages dans les bassins versants. Notons par ailleurs le souhait aussi formulé par le SAGE de mieux contrôler les fuites d'azote en aval des estuaires, responsables d'échouage d'algues vertes et d'apparition de blooms de phytoplancton toxique.

SAGE Bas-Léon

Le SAGE du Bas-Léon a souligné son vif intérêt pour une collaboration au projet ECOEST, un des enjeux majeurs de ce SAGE étant la préservation des estuaires où de nombreux sites conchylicoles sont présents (Aber Wrac'h). Une reconquête de la qualité des eaux estuariennes est devenue nécessaire au niveau de 3 hydrosystèmes gérés par ce SAGE, et étudiés dans le projet ECOEST (Aber Wrac'h, Quillimadec, Flèche). Par ailleurs ce SAGE relève que sa participation aux travaux de ECOEST lui permettra de conforter le partenariat inter-SAGE qu'il juge vivement souhaitable.

SAGE Aulne

L'EPAGA, structure du SAGE Aulne a apporté aussi son soutien et sa collaboration au projet ECOEST, ses objectifs visant à maintenir l'équilibre écologique de la rade de Brest dans laquelle débouche l'estuaire de l'Aulne. Notons que l'hydrosystème Douffine est un affluent de l'Aulne, déclassé par la mauvaise qualité de ses eaux potentiellement liée à une activité piscicole très soutenue ainsi qu'à une activité industrielle dans sa partie aval. Un besoin de nouvelles connaissances est donc vivement souhaité au niveau de cet hydrosystème déclassé.

2. Présentation du projet

2.1 Contexte scientifique global

L'estimation de l'état écologique d'un système estuarien demeure encore un exercice particulièrement difficile ; aussi, l'Agence Française pour la Biodiversité a mis en place en 2012 une coordination de la recherche et des études inter-estuariennes au niveau national (MIE : Mission Inter-Estuariennes), visant à développer des projets de recherche appliquée pour une meilleure compréhension du fonctionnement des systèmes estuariens.

Un Audit de la MIE (Janvier 2018) a identifié plusieurs points d'intérêt majeur pour l'estimation de l'état écologique des estuaires :

- différents indicateurs estuariens sont mis en œuvre pour répondre aux directives de la DCE, mais ils ne permettent pas encore d'aborder pleinement les aspects fonctionnels des systèmes estuariens, car trop orientés sur l'état structurel des estuaires ;
- il est donc nécessaire d'approfondir le fonctionnement écologique des estuaires pour distinguer les effets des différents stressés sur les organismes vivants, et mieux anticiper les réponses biologiques face aux pressions anthropiques et aux changements climatiques ;

- les petits systèmes estuariens ont été très peu étudiés jusqu'à présent au niveau national, et nécessitent donc un gros effort de recherche et de suivi ;
- les zones estuariennes amont (oligohaline : $0,5 < \text{salinité} < 5 \text{ g/L}$ & mésohaline : $5 < \text{salinité} < 18 \text{ g/L}$), les plus stressantes pour les organismes, sont encore très peu étudiées. Ce sont des zones biologiquement très productives mais soumises à de fortes fluctuations de la salinité et de l'hydrodynamisme ;
- l'intérêt de l'approche inter-estuaire a été souligné, car elle permet d'analyser de manière comparative le fonctionnement de systèmes estuariens présentant des environnements contrastés. Elle est d'autant plus pertinente quand on ne dispose pas de séries temporelles au niveau intra-estuaire, ce qui est particulièrement le cas des petits hydrosystèmes.

Le déclin dramatique des poissons diadromes dans l'Atlantique Nord a conduit à la mise en place d'indicateurs poisson pour estimer la qualité des eaux de transition en Europe (Teichert et al. 2016) ; des investigations complémentaires sont cependant nécessaires pour déterminer comment les stressors à échelle locale ou globale interagissent sur les peuplements et populations de poissons estuariens. Une approche sur la « physiologie du poisson » est ainsi développée en estuaires depuis les années 2000 sur le flet (Fig. 1), une espèce résidant en estuaire, à cycle de vie relativement long, largement distribuée à l'échelle de l'Europe. Cette approche intègre les réponses moléculaires, les traits d'histoire de vie, voire la variabilité génétique, (1) pour identifier les réponses spécifiques des populations de flets aux différents stressors estuariens, (2) pour quantifier de possibles altérations de leur fitness (Marchand et al. 2004 ; Laroche et al. 2013 ; Dupuy et al. 2015 ; Borcier et al. 2016, 2019, Laurent et al. 2022).

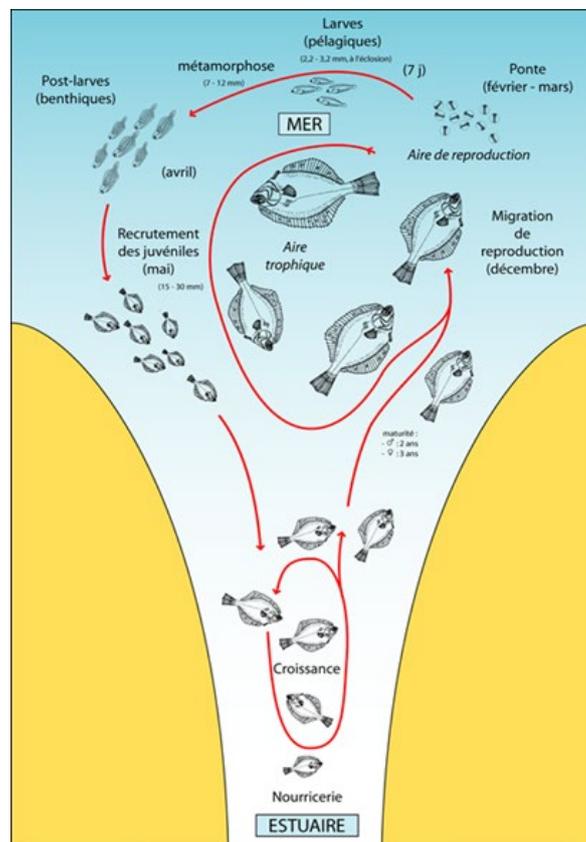


Figure 1. Cycle biologique du flet (*Platichthys flesus*) sur les côtes Atlantiques Françaises

2.2 Contexte local breton

Les estuaires et les zones côtières adjacentes sont considérés comme des aires de nourricerie essentielles pour les stades juvéniles de nombreuses espèces marines (bar, sole, daurade, crevette...), et des zones de migrations pour les poissons amphihalins (saumon atlantique, truite de mer, anguille, alose, flet) ; ce sont aussi des zones d'intérêt majeur pour les activités conchylicoles, particulièrement au niveau de la façade atlantique française. Sur les vingt dernières années, on observe un certain déclin des estuaires et zones littorales bretonnes (Rapport de la cour des comptes 2021), caractérisé notamment par : (1) une baisse de nitrate insuffisante dans les cours d'eau pour enrayer les marées vertes en aval, et (2) un développement de plus en plus fréquent de micro-algues toxiques dans les eaux côtières lié à une eutrophisation générale et probablement aussi à l'effet de flux de pesticides d'origine agricole.

La dégradation des eaux estuariennes et côtières en Bretagne peut ainsi conduire dans la Baie de Morlaix au déclin actuel de certains secteurs ostréicoles (passage de la classe A à la classe B) et peut s'accompagner d'une fragilisation accrue des stocks conchylicoles, se traduisant parfois par des pertes de croissance très significatives et des mortalités élevées.

La filière Pêche & Conchyliculture en Bretagne peut donc être très directement impactée par la dégradation de la qualité des eaux estuariennes et côtières adjacentes, mais dispose globalement de peu de moyens d'alerte, car les indicateurs classiques de la DCSMM (Directive-Cadre « Stratégie pour le Milieu Marin ») ne permettent pas d'identifier clairement les différents facteurs de forçage qui conduisent à des eaux côtières de qualité médiocre. On pourrait ici faire une analogie avec la médecine : « il est relativement facile de dire qu'un patient est malade, mais beaucoup plus difficile de diagnostiquer les causes de la maladie ». La situation est proche pour certains écosystèmes côtiers bretons : on peut considérer qu'ils ne sont pas en bonne santé, mais on ne connaît pas précisément la nature des stressseurs qui y interagissent, des facteurs qui seraient peut-être gérables pour de futures actions de restauration.

Aussi, de 2018 à 2021, nous avons développé avec le soutien de l'Office Français de la Biodiversité (Projet OFB-POPEST « Marqueurs de vulnérabilité de populations de flet identifiés par la protéo-génomique : de nouveaux outils pour estimer l'état écologique des systèmes estuariens ») une recherche sur les réponses moléculaires du flet dans cinq petits estuaires en Région Bretagne. Ce travail a permis de mettre en vis-à-vis des altérations moléculaires et physiologiques du flet (LEMAR), une approche géographique de l'occupation et des usages des bassins versants par SIG (LETG), et une analyse de la contamination chimique dans le biote et les sédiments (CEDRE). OFB-POPEST nous indique clairement que le flet est un très bon enregistreur de la qualité des masses d'eau dans les petits estuaires. L'intégration des métriques biologiques - géographiques - chimiques, conduit ainsi à un premier diagnostic écologique sur les différents estuaires bretons : Aven : système bassin versant - estuaire, globalement peu stressé / Scorff : bonne qualité globale du bassin versant, mais pollution organique et métallique dans le bas-estuaire, risque hypoxique / Noyal : bassin versant très artificialisé dans sa partie aval, rejets azotés et contamination chimique lourde, risque hypoxique / Horn : forte pression agricole sur le bassin versant, avec eutrophisation soutenue et forte contamination aux pesticides / Penzé : pression agricole plus modérée.

2.3 Objectifs du projet ECOEST

Suite au projet OFB-POPEST, le projet ECOEST nous a permis d'approfondir nos recherches sur les estuaires au niveau de la Région Bretagne. Nous avons ainsi élargi notre approche pluridisciplinaire (Géographie sur l'usage des sols dans les bassins versants / Chimie des polluants / Biologie de l'espèce sentinelle flet), pour dégager une vision approfondie de l'état écologique de onze hydrosystèmes bretons (Fig. 2) qui présentent des situations environnementales très contrastées (Gouessant, Penzé, Horn, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven, Scorff, Noyal (Liziec)).

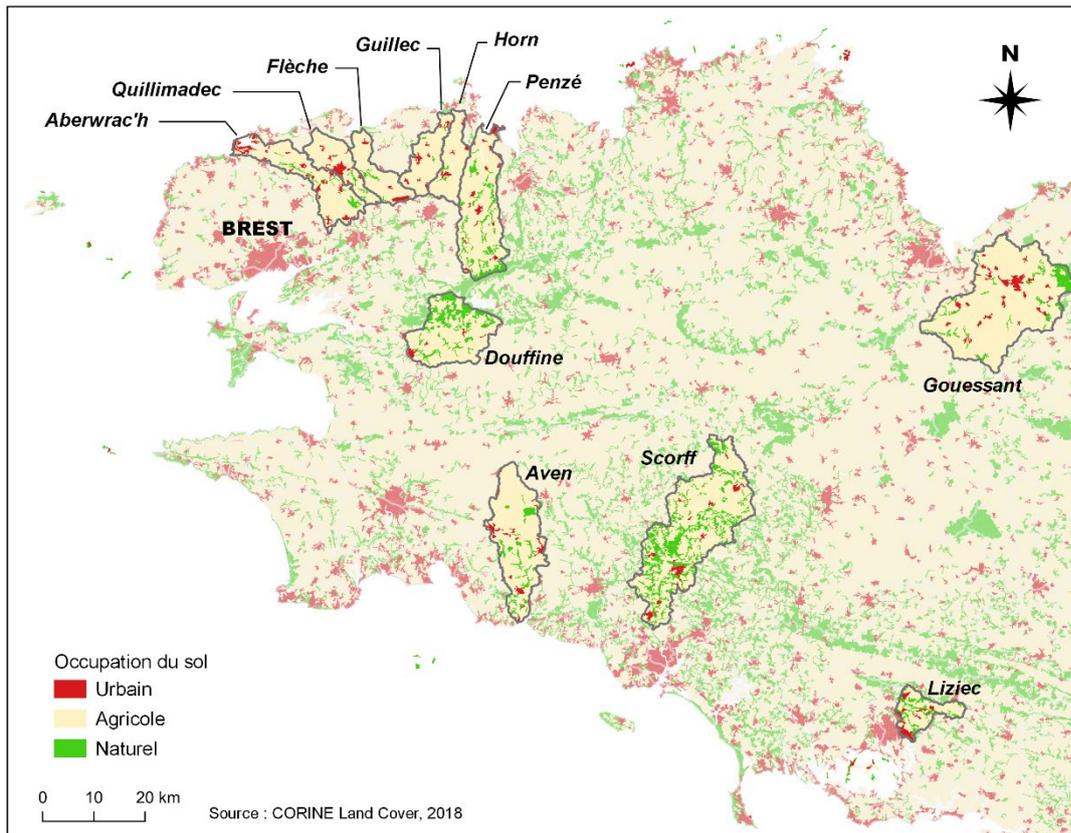


Figure 2. Onze hydrosystèmes bretons analysés dans le projet ECOEST

Nous allons donc mettre en évidence les relations entre :

- * la nature et le niveau d'anthropisation des bassins versants (en affinant nos métriques géographiques sur l'usage des sols par les SIG: notamment sur l'état du bocage et de la ripisylve, sur le niveau de surface artificialisée, ...). Travail mené par LETG ;
- * son impact sur la qualité physico-chimique des eaux estuariennes (mesures actuelles de température, pH, O₂, conductivité, nitrites, nitrates (LEMAR) ; évolution de ces paramètres sur les 20 dernières années, avec la collaboration de la DREAL de Rennes) ;
- * son impact sur les teneurs en polluants dans les sédiments (et dans le poisson quand cela est possible) : métaux, PAHs, PCBs (LEMAR, CEDRE), avec une étude approfondie complémentaire sur les pesticides dans les eaux et les sédiments des 11 estuaires (prestataire de service : LABOCEA - Plouzané) ;
- * les dérégulations moléculaires et les altérations physiologiques du flet aux multi-stress estuariens (LEMAR).

Les objectifs majeurs du projet ECOEST sont :

- (1) d'explorer l'état de santé des hydro-systèmes bretons (du bassin versant à l'estuaire), par le diagnostic précis des différents stressseurs propres à chaque système, et par l'estimation des altérations biologiques induites par ces stressseurs sur le poisson ;
- (2) de maintenir une collaboration forte entre les scientifiques, les SAGE et les collectivités gérant les différents bassins versants, pour croiser et partager les résultats scientifiques et les connaissances des gestionnaires sur les hydrosystèmes ;
- (3) de fournir aux gestionnaires de l'environnement des outils de diagnostic, pour le monitoring de l'état de santé des écosystèmes estuariens, et pour le suivi des opérations de restauration.

3. Méthodologie et mise en œuvre du projet

Méthodologie

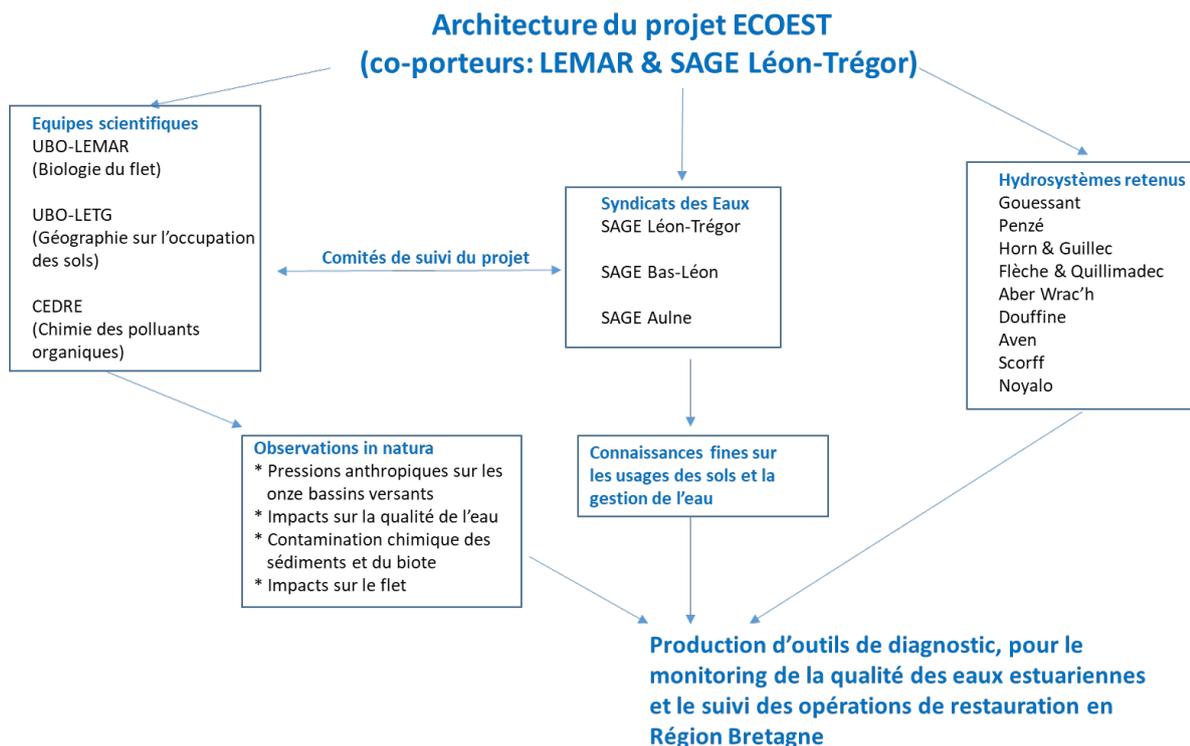


Figure 3. Architecture générale du projet ECOEST.

ECOEST propose de développer des outils novateurs et intégrateurs sur l'état écologique des hydrosystèmes et de fournir des données robustes comme soutien pour l'aide à la décision aux gestionnaires des masses d'eau. Nous allons détailler dans les sous-chapitres suivants notre méthodologie, synthétisée dans l'architecture générale du projet ECOEST (Fig. 3).

Echantillonnage sur le terrain (eaux, poissons, sédiments) : travail réalisé de Octobre 2020 à Octobre 2021 (LEMAR)

Pêches électriques de flets (matériel LEMAR) réalisées en collaboration avec les techniciens de rivière des SAGES et les représentants des AAPPMA (associations de pêcheurs), dans la zone de transition eau douce - eau salée en : Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven.

Analyse de l'eau sur le terrain (pH, salinité, conductivité, température, oxygène dissous) + prélèvements d'eau et congélation (pour analyse des nitrites & nitrates).

Prélèvements de sédiments pour analyse des polluants métalliques et organiques.

Capture de 30 flets juvéniles classe 0+ par estuaire (7 cm < longueur totale < 10 cm).

Manipulations sur le poisson (sur le terrain) : mesure de longueur, prise de poids, dissection des différents tissus (foie, muscle, cerveau, nageoire, otolithes), puis conservation dans l'azote liquide pour analyses biologiques.

Gouvernance du projet ECOEST : Octobre 2022 - Octobre 2024 (relations Equipes Scientifiques - SAGES)

La mise en œuvre de notre projet précédent OFB-POPEST en 2018-2021 (Marqueurs de vulnérabilité de populations de flet identifiés par la protéo-génomique : de nouveaux outils pour estimer l'état écologique des systèmes estuariens) a permis de développer des relations de confiance entre les 3 laboratoires (LEMAR, LETG, CEDRE) et plusieurs SAGE de la Région Bretagne. Des relations privilégiées ont été développées particulièrement avec les SAGE du Léon-Trégor, du Bas Léon, de l'Aulne qui sont naturellement intégrés dans le projet ECOEST. Les équipes scientifiques et les SAGE précités ont donc appris à travailler ensemble pendant plusieurs années. Pour maintenir la cohérence du projet ECOEST à l'interface Science & Société, nous avons programmé des réunions de comité de suivi du projet (13 réunions avec les 3 SAGE sur la période 2021-2024) pour partager nos connaissances, et favoriser une intercompréhension mutuelle entre scientifiques et gestionnaires.

Travaux sur les prélèvements du terrain et sur l'information géographique : Octobre 2022 - Octobre 2023 (LEMAR - LETG - CEDRE)

LEMAR

Analyses des nitrites et nitrates dans les eaux superficielles (surcharge en azote ?).

Analyses des polluants métalliques dans les poissons et les sédiments (surcharge en métaux ?).

Dosages isotopiques dans le muscle de flet (origine terrestre vs marine de l'alimentation ? surcharge en azote dans le milieu ?).

Dosages des lipides de réserve, des phospholipides et des acides gras dans le muscle de flet (état de santé des poissons ?)

Analyses des éléments traces dans l'otolithe par ICP-MS (signatures métalliques anormales ? risque hypoxique ?).

Réponses moléculaires analysées au niveau du foie par une approche de Protéomique globale de type « shotgun » (découvrir et quantifier les protéines impliquées dans les grandes fonctions physiologiques, et exprimées différenciellement suivant la nature et l'intensité du stress ; approfondissement des mécanismes d'action des stressseurs chez le poisson ?).

LETG

Mise en œuvre d'un Système d'Information Géographique (SIG) en vue de produire, sur les différents bassins versants, plusieurs métriques sur l'occupation du sol (% du bassin couvert par l'agriculture, l'urbanisation, la forêt, le bocage, etc.), l'évolution temporelle des usages (urbanisation, artificialisation des sols, intensification de l'agriculture ou déclin, dispositif de protection de l'environnement, etc.) et les dispositifs de gestion et d'épuration de l'eau (limitation des rejets en azote ?). Le SIG a été alimenté à partir de l'information géographique de référence disponible au niveau national (IGN, INSEE) et régionale (GeoBretagne), ainsi qu'au niveau local auprès des syndicats des eaux. Ces syndicats en effet ont, pour la plupart, développé des SIG à vocation opérationnelle pour le suivi de leurs actions sur les bassins versants. Ces SIG reposent à la fois sur des référentiels et sur des données métiers produites en régie. Dans ECOEST les partenaires scientifiques se sont attachés à la fois, à bénéficier de l'expérience acquise par les SAGE en terme de développement et d'exploitation de SIG et, en retour, à contribuer à alimenter les SIG des SAGE par le développement de métriques pertinentes pour le suivi de la qualité de l'eau dans les petits estuaires.

CEDRE

Concentrations de polluants organiques persistants dans les sédiments et les poissons : à l'état de « bruit de fond » ? ou significativement plus élevées ?

La recherche des contaminants s'est focalisée sur deux familles de molécules connues pour être persistantes dans l'environnement et avoir des effets néfastes sur la faune aquatique, à savoir les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs) et les pesticides organochlorés avec une attention toute particulière pour les polychlorobiphényles « *Non Dioxin-Like* » ou PCB-NDL. Ces derniers ont été identifiés comme étant particulièrement toxiques (perturbateur endocrinien, effets neurocomportementaux...) et ils sont retrouvés en quantité importante dans les poissons de rivière. Cette recherche de polluants s'est faite sur les matrices sédimentaires (échantillons prélevés sur les berges et le lit des rivières) et biologiques (analyses de carcasses de poissons).

Pour les matrices biologiques, l'extraction des contaminants a été menée en Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), et pour les matrices sédimentaires, elle a été faite en Extraction Accélérée par Solvant (ASE). Toutes les quantifications ont été menées en chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse fonctionnant en tandem (GC-MS/MS).

Notons que parallèlement aux travaux du CEDRE sur les polluants organiques dans les sédiments et dans le biote, des analyses ont été aussi réalisées par un laboratoire prestataire de service (LABOCEA), qui a dosé les principaux pesticides disponibles dans les sédiments estuariens et dans les eaux.

Intégration des approches in natura (géographie, hydrobiologie, chimie, biologie) : Novembre 2023 à Octobre 2024 (LEMAR - LETG - CEDRE) & production scientifique

La deuxième année du projet a été consacrée à l'intégration des résultats acquis l'année précédente, lors des explorations *in natura* (occupation des sols dans les bassins versants, hydrobiologie, chimie des polluants, réponses moléculaires et physiologiques du flet aux stressseurs). Un gros travail d'analyse de données a été mené sur les données ECOEST, pour dégager une typologie des stressseurs dans nos différents hydrosystèmes.

Cette deuxième année a été aussi consacrée à la préparation de plusieurs publications scientifiques, et à la participation à des congrès au niveau national et international. L'approche pluridisciplinaire développée dans ECOEST est particulièrement novatrice, et nous a ainsi permis de produire : 1 thèse de Doctorat & 3 publications au niveau international (Annexe). Une 4^{ème} publication, intégrant l'ensemble des résultats sur les 11 hydrosystèmes bretons est actuellement en préparation.

4. Usage des sols dans les bassins versants

4.1 Méthodologie

Plusieurs métriques géographiques ont été estimées à partir de bases de données géographiques nationales et régionales. En plus d'évaluer la taille de chaque bassin versant en km², ces métriques conduisent à la production d'une première typologie sur les activités anthropiques (agriculture, urbanisation) et sur le statut écologique des différents bassins versants.

Trois indicateurs considèrent l'agriculture et les pressions associées à cette activité. La part de l'élevage par bassin versant est calculée par l'indice UGBTA (Unité Gros Bétail Tous Aliments) à partir des données AGRESTE (base de données du Ministère de l'Agriculture), tous cheptels confondus (bovins, porcins, volailles) ; cette métrique mesurant les aliments consommés par tous les animaux d'élevage sur chaque bassin versant d'intérêt. La proportion de surface agricole par bassin versant a été mesurée avec le Registre Parcellaire Graphique (RPG). La quantité de pesticides répandue sur les surfaces agricoles a été estimée par l'intermédiaire de l'Indicateur de Fréquence de Traitements Phytosanitaires (IFT) fourni par AGRESTE (Crisan, 2020 ; Pujol, 2015). IFT fournit les quantités d'insecticides, herbicides et fongicides distribuées sur les cultures par hectare.

Des indicateurs liés à l'urbanisation ont été aussi estimés. La pression urbaine est évaluée à partir des données l'INSEE, pour calculer la densité de population. La proportion de surface artificialisée a aussi été estimée par bassin versant, en utilisant les données du référentiel Theia-Land.

Trois indicateurs de bon état écologique du bassin versant ont été calculés par les bases de données Theia-Land et BD TOPO (de l'IGN à l'échelle 1 :10 000) pour estimer la proportion de surfaces naturelles, la densité du réseau bocager et la surface relative occupée par la ripisylve. Densité du bocage et importance de la ripisylve sont deux paramètres majeurs limitant fortement l'érosion des sols et le transfert des polluants vers le milieu aquatique (Boinot et al. 2023).

4.2 Résultats et discussion

Nous avons mis en vis-à-vis les métriques géographiques estimées sur la période 2018-2020 sur cinq premiers hydrosystèmes étudiés dans le cadre du projet POPEST-OFB (Tableau 1) vs celles calculées sur la période 2022-2023 sur six nouveaux hydrosystèmes dans le cadre du projet ECOEST-AELB (Tableau 2).

Tableau 1. Métriques géographiques estimées pour les bassins versants de : Penzé, Horn, Aven, Scorff et Noyal

Métriques Géographiques	PENZE	HORN	AVEN	SCORFF	NOYALO
Surface du bassin versant (km ²)	76.2	146.04	193.7	378.8	69.7
Indicateur élevage (UGBTA.ha ⁻¹)	285.2	362.5	187.9	144.5	93.6
Surface agricole (% du bassin)	66.0	73.5	70.3	58.7	50.5
Traitements phytosanitaires (IFT.bassin ⁻¹)	2.2	4.2	2.1	2.2	1.8
Densité de population (habitants.km ⁻²)	53.1	86.4	77.8	45.4	175.5
Surfaces artificialisées (% du bassin)	8.5	18.3	10.9	7.6	19.5
Nombre d'emplois industriels (par km ²)	5.2	6.7	8.1	3.4	51.8
Surfaces naturelles (% du bassin)	25.5	8.1	18.8	33.8	29.9
Densité des haies (m.km ⁻²)	8951	6919	9838	4999	5512
Ripisylve (% bande de 100m de rivière)	37.4	17.7	25.4	36.7	33.3

Tableau 2. Métriques géographiques estimées pour les bassins versants de : Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h et Douffine

Métriques géographiques	GOUESSANT	GUILLEC	FLÈCHE	QUILLIMADEC	ABER WRAC'H	DOUFFINE
Surface du bassin versant (km ²)	420.2	72.5	73.5	79.2	95.6	173.9
Indicateur élevage (UGBTA.ha ⁻¹)	284.7	328.9	533.5	361.4	362.2	221.7
Surface agricole (% du bassin)	74.9	74.4	77.7	72.2	71.4	59.1
Traitements phytosanitaires (IFT.bassin ⁻¹)	2.7	3.8	2.5	2.5	2.4	1.8
Production aquacole (T.an ⁻¹)	0	450	20	50	0	900
Densité de population (habitants.km ⁻²)	84.3	85.7	45.9	172.4	117.8	31.3
Surfaces artificialisées (% du bassin)	10.9	18.2	12.9	19.1	18.7	5.6
Surfaces naturelles (% du bassin)	14.2	7.5	9.5	8.7	9.9	35.3
Densité des haies (m.km ⁻²)	5628	7546	9554	9555	7724	7970
Ripisylve (% bande de 100m de rivière)	16.6	17.6	16.9	12.9	18.3	33.3

Les bassins versants étudiés dans ECOEST sont des bassins versants de petites tailles : < 100 km² pour 6 bassins (Penzé, Noyal, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber wrac'h), entre 100 et 200 km² pour Horn, Aven et Douffine (Tableaux 1 & 2). Deux bassins présentent une surface moyenne autour de 400 km² (Scorff et Gouessant).

On peut identifier une pression liée à l'élevage particulièrement forte sur la Flèche (533 UGBTA), soutenue sur Penzé, Horn, Gouessant, Guillec, Quillimadec et Aber Wrac'h (285 < UGBTA < 360) et enfin une pression de l'élevage plus modérée sur l'Aven, le Scorff, Noyal et la Douffine (93 < UGBTA < 221) (Tableaux 1 & 2).

La proportion de surface consacrée à l'agriculture est très proche dans la grande majorité des bassins versants (≈ 70%), avec cependant une valeur un peu plus réduite pour le Scorff, Noyal et la Penzé (< 60%).

On remarque par ailleurs un indicateur de pression phytosanitaire particulièrement élevé en pleine zone légumière pour Horn et Guillec (IFT ≈ 4), des valeurs soutenues pour Penzé, Aven,

Scorff, Gouessant, Flèche, Quillimadec et Aber Wrac'h ($2,1 < \text{IFT} < 2,7$), enfin des valeurs plus réduites pour Noyal et Douffine ($\text{IFT} = 1.8$).

La densité de population élevée sur le Quillimadec et sur Noyal ($\approx 170 \text{ hab. / km}^2$) est liée respectivement à une partie des villes de Lesneven et Vannes (Tableaux 1 & 2). Des densités de populations moyennes ($80 < \text{hab. / km}^2 < 110$) sont observées pour Horn, Aven, Gouessant, Guillec, Aber Wrac'h ; ces densités étant faibles pour Penzé, Scorff, Flèche et Douffine ($31 < \text{hab. / km}^2 < 53$). Les surfaces artificialisées sont en conséquence les plus fortes sur Quillimadec et Noyal ($\approx 20\%$), et les plus faibles sur Penzé, Scorff et Douffine ($< 8,5 \%$).

Parmi les indicateurs de bon état écologique, on trouve une certaine cohérence entre l'étendue des surfaces naturelles dans les bassins versants ($> 19 \%$) et l'importance de la ripisylve ($> 25\%$) pour Penzé, Aven, Scorff, Noyal et Douffine (Tableaux 1 & 2). L'indicateur densité des haies doit être manifestement considéré avec précaution, car il ne semble pas être lié de façon cohérente avec les deux indicateurs de qualité précédents (surface naturelle et ripisylve).

On remarque par ailleurs que des estimations menées dans la première série des cinq bassins versants de ECOEST (Tableau 1), mettent en évidence un fort nombre d'emplois à caractères industriels dans le bassin versant de Noyal qui englobe une partie de la zone artisanale de la ville de Vannes. Dans la deuxième série des six bassins de ECOEST (Tableau 2), on peut observer une spécificité des activités anthropiques sur la Douffine, avec une forte production aquacole de 900 tonnes de truites / an sur ce bassin versant.

Résumé sur les usages des sols

Les bassins versants présentant vraisemblablement la plus forte pression agricole (Gouessant, Horn, Guillec, Flèche, Quillimadec et Aber Wrac'h) sont caractérisés par leurs larges surfaces consacrées à l'agriculture, des traitements phytosanitaires et des activités d'élevage soutenus. Notons une urbanisation un peu plus prononcée sur les bassins versants du Quillimadec et de l'Aber Wrac'h. Les bassins présentant une pression agricole possiblement plus faible (Penzé, Douffine, Aven, Scorff) sont caractérisés par une meilleure préservation de leurs habitats naturels et de la ripisylve ; le bassin de la Douffine présentant par ailleurs une activité aquacole très soutenue. Un contraste marqué est observé pour le bassin versant de Noyal, avec une zone urbanisée et artisanale dans sa partie aval, et une zone à activité agricole modérée dans sa partie amont.

5. Analyses hydrobiologiques, chimiques & signatures environnementales

Les activités anthropiques sur les bassins versants (agricoles, industrielles et domestiques) conduisent à des transferts de nutriments azotés et phosphorés, et de possibles polluants chimiques, vers les milieux aquatiques. Nous avons donc mené différentes explorations sur la qualité de l'eau dans les bassins versants de ECOEST, en suivant particulièrement les teneurs en azote inorganique (ammoniacque, nitrite et nitrate) liées à la fertilisation des sols et aux eaux usées, ainsi que les concentrations en pesticides communément utilisés en agriculture. De plus, plusieurs polluants d'origine anthropique (ou xénobiotiques) ont été analysés dans le sédiment et dans le muscle de flet, en liaison avec le trafic routier, les effluents domestiques

et industriels (PAHs, PCBs, métaux). Des éléments traces et des isotopes stables ont été également dosés dans l'otolithe de flets, pour caractériser : l'exposition des organismes aquatiques aux polluants, l'habitat du poisson et le taux d'activité métabolique du poissons (Laurent et al. 2023). Nous présentons ci-dessous les données acquises dans le projet POPEST-OFB (Tableau 3) et dans le cadre du projet ECOEST-AELB (Tableau 4), pour dégager une vision globale sur les onze hydrosystèmes bretons étudiés.

Tableau 3. Moyennes et écart-types sur les analyses chimiques et biologiques réalisées sur les échantillons de Penzé, Horn, Scorff et Noyal, en 2018. (a) Concentrations en nitrates, nitrites et ammonium dans l'eau. (b) Concentrations en polluants organiques dans la carcasse du flet. (c) Concentrations en éléments traces dans le muscle de flet. (d) Eléments traces dans l'otolithe de flet. (e) Niveau de génotoxicité (Test des comètes) dans le sang de flet (Statistique: test de Kruskal-Wallis: p-value < 0.05, lettres correspondant à des différences significatives entre hydrosystèmes).

Analyses chimiques		PENZE	HORN	AVEN	SCORFF	NOYALO
Concentrations en azote inorganique dissous dans l'eau* (mg.L ⁻¹)	NO ₃ ⁻	34.1 ± 2.9 ^(a) (39.8)**	59.6 ± 3.7 ^(b) (58.4)**	24.0 ± 4.1 ^(ac) (22.2)**	19.7 ± 1.71 ^(c) (18.2)**	7.1 ± 9.3 ^(c) (10.8)**
	NO ₂ ⁻	0.16 ± 0.15 ^(ac) (0.17)**	0.5 ± 0.2 ^(a) (0.47)**	0.03 ± 0.01 ^(b) (0.01)**	0.03 ± 0.01 ^(bc) (0.02)**	0.31 ± 0.32 ^(a) (0.31)**
	NH ₄ ⁺	0.08 ± 0.04 ^(b)	0.24 ± 0.09 ^(c)	0.03 ± 0.02 ^(ac)	0.02 ± 0.01 ^(d)	0.49 ± 0.46 ^(ac)
Concentrations en polluants organiques dans la carcasse du flet (ng.g ⁻¹ DW)	PAHs	ND ^(a)	6.8 ± 6.8 ^(ab)	11.9 ± 11.9 ^(ab)	51.7 ± 37.9 ^(ab)	1130.5 ± 1091 ^(b)
	PCBs	457.1 ± 46.8 ^(a)	ND ^(b)	ND ^(b)	ND ^(b)	482.1 ± 148.0 ^(a)
Concentrations en éléments traces dans le muscle de flet (µg.g ⁻¹ DW)	Arsenic	3.1 ± 0.3 ^(b)	3.5 ± 0.3 ^(bc)	5.5 ± 0.3 ^(ac)	0.8 ± 0.1 ^(d)	5.5 ± 1.9 ^(b)
	Cadmium	0.01 ± 0.001 ^(a)	0.01 ± 0.003 ^(a)	ND ^(b)	0.01 ± 0.001 ^(a)	ND ^(b)
	Cuivre	1.2 ± 0.04 ^(bc)	1.1 ± 0.04 ^(b)	1.3 ± 0.06 ^(ab)	1.2 ± 0.07 ^(b)	1.2 ± 0.2 ^(ac)
	Plomb	ND ^(b)	0.04 ± 0.02 ^(a)	0.01 ± 0.008 ^(ab)	ND ^(b)	0.1 ± 0.07 ^(a)
	Zinc	38.1 ± 1.1 ^(b)	42.5 ± 4.0 ^(bc)	40.1 ± 0.8 ^(bc)	38.3 ± 1.8 ^(b)	45.8 ± 3.2 ^(c)
Génotoxicité (% DNA Tail)	COMET	39.2 ± 1.2 ^(b)	38.9 ± 1.1 ^(b)	40.8 ± 1.7 ^(b)	32.3 ± 1.5 ^(c)	NA
Concentrations en éléments traces dans l'otolithe du flet (µmol.mol ⁻¹ Ca)	Manganèse	7.55 ± 0.96 ^(bc)	4.02 ± 0.79 ^(ab)	2.13 ± 0.29 ^(a)	26.83 ± 4.28 ^(c)	21.14 ± 5.98 ^(c)
	Strontium	1121 ± 35 ^(bc)	950.8 ± 57 ^(bcd)	1875 ± 69 ^(b)	817.7 ± 50 ^(ac)	487.4 ± 43 ^(ad)
	Cuivre	0.59 ± 0.11 ^(ac)	0.36 ± 0.08 ^(abc)	0.16 ± 0.03 ^(b)	0.71 ± 0.15 ^(c)	0.55 ± 0.08 ^(ac)
	Zinc	5.9 ± 0.35 ^(bc)	16.3 ± 2.9 ^(b)	11.77 ± 0.5 ^(b)	6.03 ± 1.66 ^(bc)	2.42 ± 0.29 ^(ac)
	Fer	1.54 ± 0.29 ^(ab)	2.34 ± 0.26 ^(abc)	1.31 ± 0.08 ^(b)	10.88 ± 5.1 ^(c)	10.61 ± 7.1 ^(c)
	Lithium	0.69 ± 0.02 ^(bd)	1.19 ± 0.07 ^(bc)	2.51 ± 1.17 ^(c)	1.32 ± 0.22 ^(bc)	0.59 ± 0.03 ^(ad)
	Molybdène	ND ^(b)	0.01 ± 0.002 ^(ab)	ND ^(b)	0.17 ± 0.11 ^(c)	0.02 ± 0.01 ^(abc)
	Vanadium	0.01 ± 0.002 ^(b)	0.03 ± 0.01 ^(ab)	0.02 ± 0 ^(bc)	1.05 ± 0.69 ^(a)	0.06 ± 0.004 ^(ac)

* Données fournies par la DREAL de Rennes sur des échantillons d'eau de 2018, avec une exception pour l'Aven prélevé en 2016.

** valeurs additionnelles entre parenthèses correspondent aux concentrations en nitrate et nitrite mesurées le jour de l'échantillonnage sur les estuaires en 2018. ND

ND : non détectable.

Tableau 4. Moyennes et écart-types sur les analyses chimiques et biologiques réalisées sur les échantillons de Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac’h, Douffine et Aven en 2020. Concentrations en nitrites, nitrates et ammonium dans l’eau. Concentrations en polluants organiques dans le sédiment et dans la carcasse du flet. Concentrations en éléments traces dans le sédiment et dans le muscle du flet. Concentrations en éléments traces dans l’otolithe de flet (Statistique: test de Kruskal-Wallis : p-value < 0.05, lettres correspondant à des différences significatives entre hydrosystèmes).

Chemical analysis		GOUESSANT	GUILLEC	FLÈCHE	QUILLIMADEC	ABER WRAC’H	DOUFFINE	AVEN
Azote inorganique dissous dans l’eau * (mg.L ⁻¹)	NO ₂ ⁻	0.16 ± 0.03 ^(a) (0.11)**	0.14 ± 0.03 ^(a) (0.17)**	0.06 ± 0.01 ^(abc) (0.00029)**	0.07 ± 0.03 ^(abc) (0.14)**	0.05 ± 0.01 ^(bc) (0.06)**	0.12 ± 0.04 ^(ab) (0.08)**	0.03 ± 0.002 ^(c) (0.016)**
	NO ₃ ⁻	21.1 ± 3.6 ^(ad) (25.2)**	50.8 ± 1.5 ^(b) (48.0)**	36.8 ± 2.7 ^(c) (51.2)**	33.7 ± 2.7 ^(ac) (32.1)**	32.8 ± 1.8 ^(acd) (19.2)**	12.0 ± 0.9 ^(d) (18.5)**	24.0 ± 1.5 ^(acd) (25.0)**
	NH ₄ ⁺	0.15 ± 0.03 ^(ab)	0.4 ± 0.09 ^(a)	0.06 ± 0.01 ^(bcd)	0.09 ± 0.02 ^(abc)	0.07 ± 0.02 ^(cd)	0.1 ± 0.03 ^(abc)	0.03 ± 0.01 ^(d)
Polluants organiques dans le sédiment (ng.g ⁻¹ DW)	PAHs	117 ± 5 ^(a)	105 ± 68 ^(a)	300 ± 103 ^(ab)	488 ± 40 ^(ab)	274 ± 43 ^(ab)	536 ± 162 ^(ab)	1480 ± 270 ^(b)
	PCBs	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Polluants organiques dans la carcasse du flet (ng.g ⁻¹ DW)	PCBs	4.0 ± 1.2 ^(a)	0.7 ± 0.7 ^(a)	11.6 ± 0.5 ^(abc)	22.8 ± 4.4 ^(bc)	4.3 ± 1.2 ^(ab)	27.7 ± 0.2 ^(c)	22.1 ± 4.6 ^(c)
Éléments traces dans le sédiment (µg.g ⁻¹ DW)	Arsenic	4.3 ± 0.4 ^(a)	8.4 ± 0.2 ^(ac)	4.1 ± 0.7 ^(a)	9.2 ± 0.7 ^(ab)	27.4 ± 3.4 ^(b)	14.3 ± 0.4 ^(bc)	13.1 ± 0.7 ^(bc)
	Cadmium	0.11 ± 0.01 ^(a)	0.58 ± 0.01 ^(bc)	0.15 ± 0.02 ^(ab)	0.32 ± 0.03 ^(abd)	0.29 ± 0.06 ^(abd)	2.18 ± 0.3 ^(c)	0.87 ± 0.03 ^(cd)
	Cuivre	5.9 ± 0.6 ^(ab)	7.0 ± 0.1 ^(abd)	2.7 ± 0.5 ^(a)	7.4 ± 0.5 ^(abd)	13.8 ± 2.1 ^(bc)	69.2 ± 13.3 ^(c)	25.4 ± 1.3 ^(cd)
	Plomb	9.8 ± 0.9 ^(ad)	11.6 ± 0.3 ^(ab)	5.5 ± 0.5 ^(a)	11.5 ± 0.6 ^(ab)	34.7 ± 5.6 ^(bc)	261.7 ± 56.9 ^(c)	31.6 ± 0.9 ^(bcd)
	Zinc	23.5 ± 2.3 ^(ab)	69.6 ± 1.5 ^(ac)	16.2 ± 2.7 ^(b)	47.7 ± 3.3 ^(abd)	60.2 ± 8.6 ^(abc)	326.1 ± 51.5 ^(c)	110.9 ± 5.7 ^(cd)
Éléments traces dans le muscle de flet (µg.g ⁻¹ DW)	Arsenic	1.72 ± 0.38 ^(ac)	2.16 ± 0.24 ^(a)	0.39 ± 0.01 ^(b)	2.83 ± 0.33 ^(a)	3.12 ± 0.51 ^(a)	0.8 ± 0.09 ^(bc)	6.02 ± 0.32 ^(d)
	Cadmium	0.001 ± 0.0002 ^(ace)	0.003 ± 0.0002 ^(bd)	0.004 ± 0.0004 ^(be)	0.001 ± 0.0001 ^(a)	0.002 ± 0.0003 ^(cd)	0.003 ± 0.001 ^(bd)	0.001 ± 0.0002 ^(e)
	Cuivre	1.06 ± 0.08 ^(a)	1.07 ± 0.04 ^(a)	0.93 ± 0.15 ^(b)	0.96 ± 0.05 ^(ab)	0.96 ± 0.07 ^(ab)	1.03 ± 0.05 ^(a)	0.81 ± 0.04 ^(b)
	Plomb	0.03 ± 0.02 ^(ab)	0.02 ± 0.005 ^(ab)	0.01 ± 0.01 ^(a)	0.02 ± 0.003 ^(bc)	0.02 ± 0.003 ^(bcd)	0.05 ± 0.01 ^(c)	0.01 ± 0.001 ^(ad)
	Zinc	44.5 ± 9.8 ^(a)	33.6 ± 3.1 ^(a)	27.9 ± 1.0 ^(a)	28.4 ± 3.2 ^(ab)	34.3 ± 4.2 ^(a)	32.3 ± 2.9 ^(a)	21.9 ± 1.5 ^(b)
Éléments traces dans l’otolithe de flet (µmol.mol ⁻¹ Ca)	Strontium	423 ± 99 ^(a)	471 ± 84 ^(a)	650 ± 45 ^(ab)	811 ± 93 ^(bc)	1155 ± 36 ^(cd)	478 ± 27 ^(a)	1655 ± 39 ^(d)
	Manganèse	36.5 ± 10.5 ^(ac)	4.9 ± 1.2 ^(bd)	7.0 ± 0.9 ^(b)	5.4 ± 0.8 ^(b)	9.9 ± 2.1 ^(ab)	30.6 ± 3.9 ^(c)	1.8 ± 0.2 ^(d)
	Cuivre	0.46 ± 0.22 ^(a)	0.26 ± 0.08 ^(abc)	0.15 ± 0.03 ^(bc)	0.48 ± 0.25 ^(ab)	0.26 ± 0.03 ^(a)	0.23 ± 0.06 ^(abc)	0.16 ± 0.03 ^(c)
	Zinc	11.6 ± 6.6 ^(a)	3.3 ± 0.8 ^(a)	2.3 ± 0.5 ^(a)	1.2 ± 0.4 ^(b)	4.4 ± 2.2 ^(ab)	9.1 ± 7.9 ^(ab)	3.8 ± 2.1 ^(ab)

* Données fournies par la DREAL de Rennes sur des échantillons d’eau de 2019, avec une exception pour l’Aven prélevé en 2016.

** valeurs additionnelles entre parenthèses correspondent aux concentrations en nitrite et nitrate mesurées le jour de l’échantillonnage sur les estuaires en 2020.

<DL : inférieur aux limites de détection.

5.1 Charge en azote inorganique dissous dans les eaux

Les concentrations en nitrate et nitrite sont suivies de près par les services de l’Etat et nous avons ainsi pu accéder aux données collectées par la DREAL Bretagne sur une base mensuelle pour tous nos hydrosystèmes, et moyennées sur l’année. Notons que les données ont été considérées sur des points de prélèvement les plus en aval que possible sur les rivières, afin d’intégrer l’ensemble des activités anthropiques sur les bassins versants. Nous avons ainsi accédé aux données de la charge en azote en 2018, 2019, avec la seule année 2016 disponible pour l’Aven (Tableaux 3 et 4).

Les plus fortes concentrations en nitrates NO₃⁻ ont été détectées pour Horn et Guillec (50 à 60 mg/L), avec des valeurs soutenues pour Penzé, Flèche, Quillimadec et Aber Wrac’h (≈ 30 mg/L) ; ces bassins présentant les plus fortes activités agricoles avec une fertilisation des sols probablement très active. On retrouve les valeurs les plus fortes en nitrites NO₂⁻ pour Horn

et Noyalò (0,3 à 0,5 mg/L) qui sont potentiellement associées à un dysfonctionnement possible des stations d'épuration localisées en aval de ces bassins versants, et à des rejets possibles de l'activité piscicole sur l'Horn. Les valeurs fortes en ammonium NH_4^+ sont aussi identifiées pour Horn et Noyalò (respectivement 0,24 et 0,49 mg/L) et pourraient aussi refléter l'impact de stations d'épuration saturées. On note également une valeur soutenue en ammonium pour Guillec (0,4 mg/L) qui pourrait avoir une origine mixte agricole et domestique.

Résumé sur les charges en azote

Les valeurs élevées en nitrate dans l'eau sont clairement associées à des bassins versants à activités agricoles très soutenues (Guillec & Horn : NO_3^- compris entre 50 et 60 mg/L) ; les autres rivières présentant des teneurs significativement plus réduites ($\text{NO}_3^- < 37$ mg/L). Les valeurs fortes en nitrite et ammonium caractérisent particulièrement Horn et Noyalò ; elles peuvent avoir des origines mixtes agricole et/ou domestique (rejets de station d'épuration).

5.2 Charge en pesticides dans les eaux de surface et dans les sédiments

Nous avons retenu plusieurs campagnes d'analyse des pesticides dans les eaux de surface, mises en place par les services gestionnaires des eaux, dans la partie aval des bassins versants de ECOEST, sur la période 2018-2019. Notons que les prélèvements ont été réalisés suite à des événements pluvieux, avec une exception pour la Penzé, où ils ont été menés avec un suivi calendaire. Par ailleurs, aucune analyse n'a été conduite sur Noyalò. Il est important de préciser que toutes les analyses ont été conduites par le même laboratoire départemental (LABOCEA) qui a recherché 150 molécules de type pesticides dans les eaux. Les données compilées dans des bases de données nous ont été communiquées par les services gestionnaires des hydrosystèmes. Nous avons ainsi pu estimer la concentration cumulée de tous les pesticides mesurés dans les eaux de surface, moyennée sur l'année, ainsi que la fréquence de détection des molécules les plus communes, par hydrosystème (Tableau 5).

Concentrations cumulées en pesticides dans les eaux de surface

Les concentrations cumulées de pesticides (CCP) en eau de surface, moyennées sur l'année (Tableau 5), montrent des valeurs les plus élevées pour Guouessant, Horn et Guillec (6,49 - 6,93 $\mu\text{g/L}$) relativement aux autres hydrosystèmes (1,16 - 3,17 $\mu\text{g/L}$). Les fortes valeurs sont probablement liées à la production intensive de céréales dans le Guouessant et de légumes dans l'Horn et le Guillec, avec un maillage bocager très lâche; elles témoignent d'un usage massif de pesticides dans ces 3 hydrosystèmes bretons, relativement à la valeur classiquement observée dans un petit bassin versant de 200 km^2 dédié à l'agriculture dans le Sud-Ouest de la France, avec une CCP dans la rivière Trec de 1,6 $\mu\text{g/L}$ (Poulier et al. 2014).

Tableau 5. Moyennes annuelles des concentrations cumulées des pesticides utilisés en agriculture & fréquences de détection des molécules majeures, dans les eaux douces de surface dans les hydrosystèmes Bretons (période 2018-2019).

Estuaires	GOUESSANT (SP)	PENZE (SC)	HORN (SP)	GUILLEC (SP)	FLÈCHE (SP)	QUILLIMADEC (SP)	ABER WRAC'H (SP)	DOUFFINE (SP)	AVEN (SP)	SCORFF (SP)
Concentrations cumulées totales de pesticides dans l'eau ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	6,49	0,87	6,93	6,61	2,12	1,25	1,85	1,16	1,45	3,17
Principales molécules détectées (fréquences de détection %)	AMPA (95%)	2,6 dichloro-benzamide (90%)	2,6 dichloro-benzamide (100%)	2,6 dichloro-benzamide (100%)	2,6 dichloro-benzamide (100%)	2,6 dichloro-benzamide (50%)	2,6 dichloro-benzamide (87%)	Métazachlore ESA (66%)	Acétochlore ESA (77%)	Acétochlore ESA (50%)
	Chlorprophame (90%)	Acétochlore ESA (73%)	Acétochlore ESA + Alachlore ESA (76%)	Acétochlore ESA (100%)	Acétochlore ESA (100%)	Acétochlore ESA (100%)	AMPA (69%)	Métazachlore OXA (44%)	Alachlore ESA (77%)	Alachlore ESA (100%)
	Diflufenicanil (50%)	ASDM (90%)	AMPA (100%)	Alachlore ESA (100%)	AMPA (50%)	Alachlore ESA (50%)	Atrazine déséthyl (80%)	Métolachlore ESA (88%)	ASDM (100%)	AMPA (50%)
	Glyphosate (95%)	Atrazine déséthyl (82%)	Atrazine déisopropyl déséthyl (76%)	AMPA (72%)	ASDM (90%)	AMPA (50%)	Glyphosate (51%)		Atrazine déséthyl (55%)	Atrazine déséthyl (100%)
	Métazachlore ESA (82%)	Métazachlore ESA (100%)	Atrazine déséthyl (76%)	ASDM (84%)	Atrazine déséthyl (90%)	ASDM (100%)	Métazachlore ESA (100%)		Métazachlore ESA (77%)	Bentazone (100 %)
	Métolachlore (70%)	Métolachlore ESA (100%)	Glyphosate (88%)	Atrazine déséthyl (84%)	Glyphosate (100%)	Atrazine déséthyl (90%)	Métolachlore ESA (100%)		Métolachlore ESA (77%)	Diméthachlore ESA (75%)
	Métolachlore ESA (100%)		Lénacile (52%)	Boscalid (61%)	Métazachlore ESA (100%)	Métazachlore ESA (100%)				Diméthénamide (50%)
	Propiconazole (70%)		Métazachlore (88%)	Diméthomorphe (68%)	Métolachlore ESA (100%)	Métolachlore ESA (100%)				Diméthénamide ESA (100%)
	Tébuconazole (65%)		Métazachlore ESA (100%)	Métazachlore ESA (100%)	Métolachlore OXA (75%)	Métolachlore OXA (50%)				Métazachlore (50%)
			Métazachlore OXA (76%)	Métazachlore OXA (100%)	Trichlopyr (50%)					Métazachlore ESA (100%)
			Métolachlore (52%)	Métolachlore ESA (100%)						Métolachlore ESA (100%)
			Métolachlore ESA (100%)	Métolachlore OXA (50%)						Métolachlore NOA (50%)
			Oxadixyl (100%)	Oxadixyl (100%)						Métolachlore OXA (100 %)
		Propyzamide (58%)							Métolachlore total (75%)	
									Terbutylazine (50%)	
Disponibilité des données (gestionnaires de bassins versants)	Service Bassins versants et GEMAPI Direction Environnement Lamballe Terre & Mer	Service Public de l'Eau An Dour Morlaix Communauté	Syndicat Mixte de Production et de Transport d'Eau de l'Horn	Syndicat Mixte de Production et de Transport d'Eau de l'Horn	Syndicat Mixte des Eaux du Bas-Léon	Syndicat Mixte des Eaux du Bas-Léon	Syndicat Mixte des Eaux du Bas-Léon	Etablissement Public d'Aménagement et de Gestion du bassin versant de l'Aulne	Cornouaille Agglomération Centre technique SAGE Sud Cornouaille	Lorient Agglomération Pôle Transformation du Territoire

* *Suivi Pluie (SP) ou Suivi Calendaire (SC)*

Si nous ne considérons pas la valeur basse de la CCP de Penzé (non comparable aux autres systèmes de par son suivi calendaire ; la concentration de pesticides pouvant augmenter d'un facteur 10 à 100 au bout de quelques heures d'un évènement pluvieux (Spycher et al. 2018)), on peut observer que des valeurs les plus faibles de CCP (1,16 - 1,85 µg/L) sont détectées pour Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven; des hydrosystèmes présentant une pression agricole moins soutenue que les trois systèmes bretons précédents (Tableau 5). On note que la plus faible CCP est observée dans la Douffine (1,16 µg/L), l'hydrosystème présentant la plus faible proportion de zone cultivée dans son bassin versant.

La comparaison des teneurs totales en pesticides dans les eaux de surface en Région Bretagne, avec les résultats obtenus en Europe est un exercice toujours très difficile. Cette comparaison est en effet fortement dépendante : (1) de la taille des bassins versants étudiés, (2) de l'usage des sols dans les bassins versants (pression agricole vs pression industrielle vs pression domestique), (3) de la nature et du nombre de molécules de type pesticides recherchées, (4) des limites de détection des molécules qui peuvent être variables selon les laboratoires de chimie analytique. De manière générale, les petites rivières sont peu étudiées en Europe, malgré leurs concentrations en pesticides souvent supérieures à celles des grandes rivières ; ces dernières présentant un potentiel de dilution des pesticides nettement plus important. Les pesticides sont donc considérés comme des menaces majeures pour l'état de santé des petits systèmes, et notamment pour leur biodiversité (Casado et al. 2019) ; ce dernier travail est particulièrement pertinent, car il a analysé les pesticides présents dans les eaux de surface de 29 rivières dans 10 pays européens, dans des bassins versants de petites tailles (de quelques dizaines à quelques centaines de km²).

Casado et al. (2019) ont ainsi recherché et quantifié 275 pesticides en 2018, dans des sites peu impactés par les stations d'épuration de ces 29 rivières à l'échelle de l'Europe. Dans cette étude, les prélèvements d'eau et analyses réalisés sur le Gouessant (quelques km en amont de Lamballe) et sur le Vernic un affluent de l'Aulne (bassin versant à pression agricole modérée, prélevé à la hauteur de Pleyben), permettent de positionner ces deux rivières relativement au classement des rivières européennes (du plus contaminé vers le moins contaminé) ; le Gouessant et le Vernic sont respectivement classés en 6^{ième} et 24^{ième} positions / 29 sites.

Résumé sur les concentrations cumulées de pesticides dans les eaux de surface

Le projet ECOEST et l'étude de Casado et al. (2019) confirment le fort niveau de contamination des eaux superficielles bretonnes par les pesticides, particulièrement pour les bassins versants présentant une activité agricole très soutenue au niveau élevage et céréales (Gouessant), et ceux associés à une production légumière intensive (Horn et Guillec). On observe donc que dans les petits hydrosystèmes classiquement trouvés en Bretagne, l'usage des sols au niveau agricole est un contributeur majeur à la contamination des rivières par les pesticides, comme cela a été démontré en Allemagne (Szöcs et al. 2017) et en Suisse (Spycher et al. 2018).

Principaux pesticides détectés dans les eaux de surface

Le Tableau 5 présente les substances actives détectées dans les eaux, ainsi que leurs métabolites qui sont en fait les molécules de dégradation de ces substances dans le milieu naturel. La fréquence des principales molécules détectées (Tableau 5) montre une contamination générale des eaux par des métabolites du Métazachlore (ESA et/ou OXA) et du Métolachlore (ESA et/ou OXA), dans l'ensemble des hydrosystèmes. Ces herbicides sont massivement utilisés en agriculture intensive dans le contexte Européen (Slaby et al. 2023 ; Bernard et al. 2019 ; Weber et al. 2018 ; Poulier et al. 2014 ; Boithias et al. 2011) et aux USA (Van Metre et al. 2017). Métazachlor et Métolachlor sont principalement utilisés lors de cultures en rotation : maïs, blé, orge, colza. On observe de plus l'herbicide Acétochlore traitant les champs de maïs, particulièrement fréquent dans les eaux de Penzé, Horn, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aven et Scorff (Tableau 5). On remarque d'autres herbicides aussi communs dans plusieurs bassins versants bretons (2,6 dichloro-benzamide ; Glyphosate et son métabolite AMPA ; Atrazine ; ASDM), largement utilisés pour la production de céréales et de légumes. L'herbicide Chlorprophame a été spécifiquement détecté dans le Gouessant ; cette molécule servant au traitement des champs d'échalotes, oignons et pommes de terre.

Une forte diversité en pesticides a été clairement détectée dans l'agriculture intensive caractérisant Gouessant, Horn et Guillec, avec notamment la présence de fongicides spécifiques (Table 5). Propiconazole et Tébuconazole sont fréquents sur le Gouessant, et principalement utilisés dans la production de céréales ; ces deux molécules étant aussi largement utilisées dans le Midwest des Etats-Unis (Van Metre et al. 2017). Précisons que le Tébuconazole est présent dans 93% des échantillons d'eau de surface issus de dix pays Européens (Casado et al. 2019). Par ailleurs, le fongicide Oxadixyl est détecté dans tous les prélèvements en Horn et Guillec ; deux fongicides supplémentaires étant aussi bien présents dans le Guillec : Boscalid et Diméthomorphe. Les trois molécules Oxadixyl, Boscalid et Diméthomorphe sont principalement utilisés en production légumière. Notons que parmi les fongicides détectés dans la présente étude, Boscalid et Tébuconazole sont fréquemment utilisés dans l'ensemble de l'Europe (Le Cor et al. 2021).

Diversité des pesticides détectés dans les sédiments estuariens

Les pesticides d'usage agricole, appelés produits phytopharmaceutiques (PPP) peuvent être identifiés dans différents supports (eau, sol & sédiment, air) ; on identifie essentiellement dans les eaux les herbicides qui sont majoritaires car hydrophiles, dans les compartiments sol-sédiment les insecticides sont généralement bien représentés car hydrophobes pour la plus-part ; enfin les fongicides sont surtout présents dans air-sol-sédiment (Leenhardt et al. 2022).

Dans ECOEST, une exploration sur les pesticides a aussi été menée sur les sédiments estuariens des différents hydrosystèmes, pour prendre en compte des molécules à caractère plus hydrophobe relativement à celles dosées précédemment dans l'eau ; les analyses ayant été conduites par le laboratoire LABOCEA qui a recherché 150 molécules sur des extractions de polluants organiques à partir de ces vases estuariennes. Les concentrations totales des pesticides dans les sédiments ECOEST sont faibles de l'ordre de quelques ng/g de poids sec, la

majorité des molécules recherchées étant sous les limites des seuils de détection ; ces faibles concentrations étant aussi observées dans différents estuaires de la façade atlantique française (Lerebours et al. 2023).

La diversité des pesticides détectés dans les vases estuariennes a été décrite dans une analyse en composantes principales (ACP) qui permet de présenter : l'importance relative des pesticides sous la forme de vecteurs (cercle de corrélation à gauche), et la distribution en conséquence des différents estuaires sous la forme de points, ceci dans un espace factoriel (à droite) défini par les axes 1 et 2 qui explique 63 % de la variance totale du jeu de données (Fig. 4).

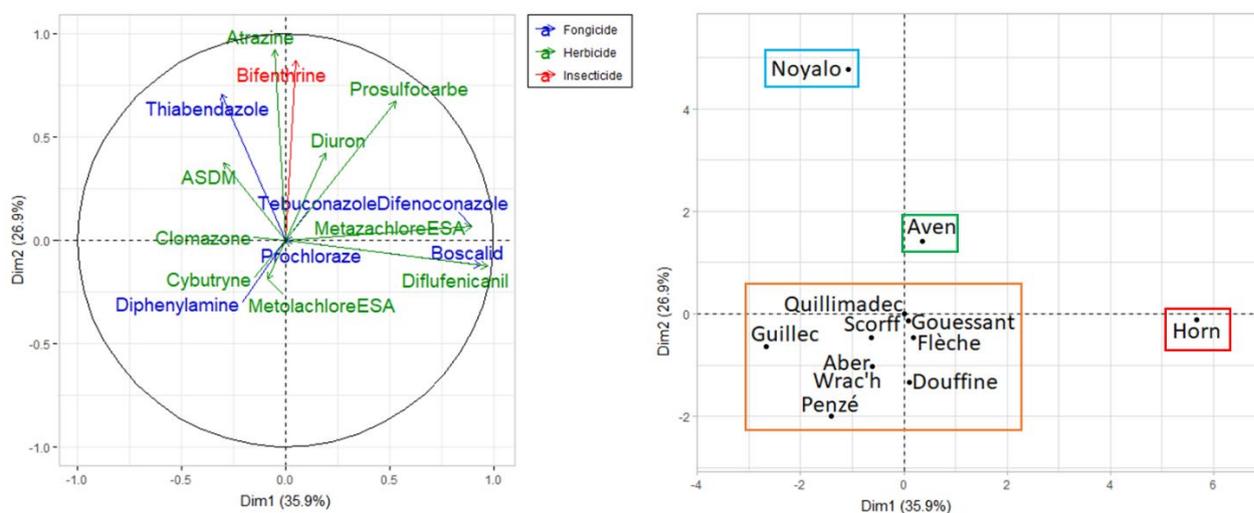


Figure 4. Analyse en Composantes Principales sur les pesticides dosés dans les sédiments estuariens du projet ECOEST (à gauche cercle de corrélation présentant les pesticides / à droite localisation des estuaires dans l'espace factoriel).

On remarque Figure 4 une situation très particulière de l'Horn qui présente une signature marquée dans ses vases pour deux fongicides (Boscalid et Difenonazole) et deux herbicides (Métazachlore ESA et Diflufenicanil). Cette tendance est très probablement liée à une activité de production légumière particulièrement soutenue.

L'essentiel des autres bassins versants à dominante agricole dans l'usage des sols sont relativement bien regroupés dans un même ensemble (Quillimadec, Guillec, Scorff, Guouessant, Flèche, Aber Wrac'h, Penzé) qui inclut aussi la Douffine (Fig. 4) ; ils ne se différencient donc pas vis-à-vis du cocktail de pesticides présent dans leurs sédiments estuariens.

La différenciation assez sensible de l'Aven relativement au groupe précédent pourrait être liée à une certaine spécificité de sa production agricole orientée sur les petits légumes, et à un maillage bocager et une ripisylve plus denses. L'originalité de Noyal en terme de signatures en pesticides dans ses sédiments ressort clairement (Fig. 4) ; elle témoigne d'un bassin versant mixte atypique (zones artisanale et agricole). On remarque dans la partie haute du cercle de corrélation, l'usage de molécules particulières (deux herbicides généralistes : Atrazine et Prosulfocarbe, un insecticide: la Bifenthrine, un fongicide sur les végétaux aussi en usage vétérinaire : la Thiabendazole).

Contamination par les pesticides et risques potentiels pour la biodiversité aquatique

Les pesticides épandus dans les zones agricoles (Produits Phytopharmaceutiques : PPP dédiés à la protection des plantes cultivées) sont distribués dans l'environnement par pollution diffuse, contrairement aux biocides (protégeant les matériaux : bois, toits et façades des constructions, ...) qui sont essentiellement liés à des pollutions ponctuelles en rivière par les effluents des stations d'épuration. Nous nous intéressons dans ECOEST particulièrement aux PPP. Ces molécules peuvent subir une dégradation dans l'environnement (au niveau du sol, de l'eau et des sédiments) liée aux activités microbiennes, à une dégradation chimique et à une photo-dégradation (Gravilescu 2005). Notons qu'une molécule particulière peut exister sous forme dissoute dans l'eau ou peut être associée à une particule ; la tendance des pesticides hydrophobes de s'associer à de la matière organique naturelle les prédisposant à s'accumuler dans les sédiments essentiellement vaseux (Gravilescu 2005).

Les plus gros consommateurs de pesticides au niveau de l'agriculture Européenne en 2017 sont par ordre décroissant : Espagne, France, Italie, Allemagne ; ceci conduisant à des risques importants dans ces quatre pays, pour les espèces affectées par la contamination des sols, eaux et sédiments par les pesticides (Alaoui et al. 2024). Sans surprise, l'expertise réalisée en France par un groupement de chercheurs INRAe-IFREMER (Leenhardt et al 2022), conclue à une contamination généralisée par les pesticides de tous les milieux et du biote qui y vit, tous les niveaux d'organisation biologique étant impactés (des niveaux moléculaires jusqu'aux niveaux des populations et des peuplements). Ce dernier travail souligne que si l'usage des herbicides paraît être un peu plus maîtrisé au niveau national, l'usage de fongicides serait lui en phase de croissance dans les milieux agricoles, pour tenter de répondre aux effets des changements climatiques.

Notons que la contamination des milieux aquatiques par les pesticides se traduit par une inhibition de la dégradation des feuilles mortes en rivière, par les micro-organismes (champignons et bactéries) affectés par les fongicides, et par les macroinvertébrés impactés par les insecticides ; cette perturbation du cycle biogéochimique de la rivière conduisant à une dégradation générale de son réseau trophique, allant des détritivores aux poissons (Leenhardt et al 2022). Précisons que l'impact actuel des pesticides sur les invertébrés aquatiques réduit de 50% leur abondance et entraîne une perte de 40% de leur richesse spécifique (Leenhardt et al 2022). Au niveau du compartiment poisson (en rivière - estuaire), on considère généralement que les pesticides ont un effet indirect sur ces vertébrés par l'altération possible de la ressource trophique et un effet direct par les dérégulations métaboliques liées à la toxicité des cocktails de pesticides (Cuevas et al. 2018). La relation terre-mer, en aval des hydrosystèmes fortement contaminés par les pesticides, se traduit par la présence de cocktails de pesticides en zones côtières pouvant conduire à des pressions sur huîtres et moules d'élevage, (1) indirectement en favorisant le développement de micro-algues toxiques, au détriment du phytoplancton nécessaire à leur nutrition, et (2) directement par l'impact toxique des pesticides sur les mollusques (Leenhardt et al 2022). Notons cependant que les effets biologiques à long terme des cocktails de pesticides en zone côtière, sur la physiologie des mollusques d'élevage, doivent être encore élucidés (Lerebours et al. 2023).

Résumé sur les pesticides détectés dans les hydrosystèmes ECOEST & Perspective de développement d'un quotient de risque lié aux cocktails de pesticides en Région Bretagne

La contamination chimique par les pesticides est bien marquée dans les eaux de surface des bassins versants à activité agricole très soutenue (production animale et production céréalière / production légumière). On retrouve dans ces eaux une majorité d'herbicides dont les molécules les plus répandues en Europe (Métazachlore et Métolachlore) avec leurs métabolites portant les suffixes ESA ou OXA. Par ailleurs, les fongicides sont aussi bien présents avec principalement Propiconazole et Tébuconazole pour la production de céréales, Oxadixyl et Boscalid pour la production légumière. Notons qu'une synthèse bibliographique sur les données écotoxicologiques les plus récentes concernant les pesticides identifiés et quantifiés dans les eaux de surface en Région Bretagne pourrait être réalisée dans le futur, pour estimer le Quotient de Risque (QR) associées aux fleuves côtiers : un indicateur de risque chronique pour les organismes aquatiques, basé sur les effets cumulés des substances sur ces organismes, et dérivé du concept toxicologique de l'addition des concentrations. A titre d'exemple, le QR a été calculé dans certaines lagunes méditerranéennes et a permis de détecter un risque chronique fort lié à la présence de mélanges de pesticides dans les eaux ; Métolachlore et ses métabolites, Propiconazole et Tébuconazole étant considérés, parmi d'autres molécules, comme des déterminants du risque pesticide en lagunes (Munaron et al. 2020 ; 2022).

5.3 Polluants organiques dans les sédiments estuariens et dans le muscle des poissons

Deux familles de polluants organiques ont été analysées dans les sédiments estuariens et dans les tissus des flets : les composés chlorés d'origine industrielle les PCBs, et les hydrocarbures de type PAHs.

Les analyses de PCBs dans les sédiments estuariens restent en dessous des limites de détection pour cette famille de molécules (Tableau 4); ces résultats mettant en évidence un impact très limité des effluents majoritairement d'origine industrielle dans nos bassins versants bretons à dominante agricole. Les teneurs en PCBs dans le poisson (Tableaux 3 & 4) sont généralement très faibles pour la plupart des estuaires (< 28 ng/g de poids sec (PS)), avec deux exceptions pour Penzé et Noyal (457-482 ng/g PS) qui présentent des concentrations très significatives, que l'on peut retrouver dans un estuaire bien anthropisé comme celui de la Seine (470 ng/g PS, in Borcier et al. 2020). L'origine de cette contamination aux PCBs est inconnue pour la Penzé, et pourrait être liée aux activités de la zone artisanale de Vannes pour Noyal.

Les analyses de PAHs ont été principalement conduites sur les sédiments ; les poissons ont une forte capacité à métaboliser cette famille de polluants organiques, ce qui conduit à des niveaux de PAHs toujours très faibles dans leurs tissus. Des teneurs faibles en PAHs dans les sédiments (Fig.5) ont été détectées pour Gouessant, Horn, Guillec, Flèche (≈ 200 ng/g PS) ; des valeurs moyennes sont observées pour Penzé, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Scorff et

Noyalo (600-100 ng/g PS) et pourraient être liées au trafic routier sur les bassins versants. La plus forte concentration de PAHs dans le sédiment est obtenue pour l'estuaire de l'Aven (1500 ng/g PS) (Fig.5) : elle est vraisemblablement liée à la présence d'un petit port de plaisance au niveau du site d'échantillonnage, ainsi qu'à un parking très fréquenté en été par les touristes et localisé en bordure d'estuaire. Globalement, la contamination des sédiments par les PAHs apparaît comme modeste sur l'ensemble des bassins versants agricoles de ECOEST, comparée à celle observée dans un bassin versant très industriel et à trafic routier intense, comme celui de la Seine (estuaire amont de la Seine : PAHs totaux dans le sédiment \approx 7200 ng/g PS, in Laurent et al. 2024).

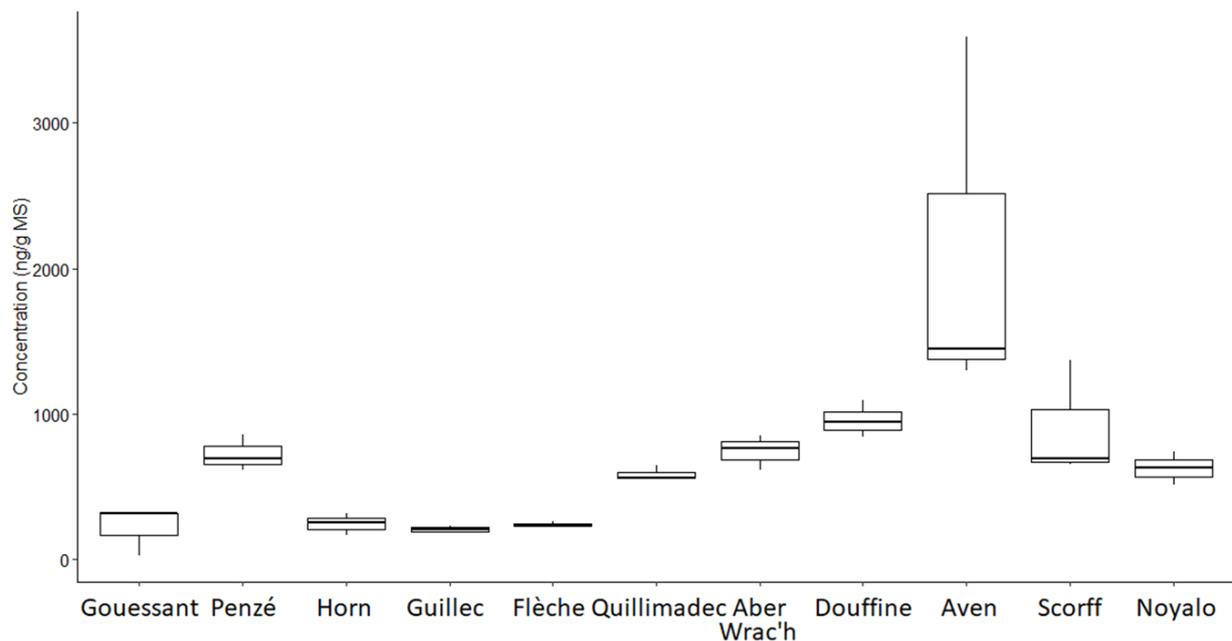


Figure 5. Concentrations en hydrocarbures de type PAHs dans les sédiments estuariens.

Résumé sur les polluants organiques dans les sédiments estuariens et dans le flet

Les signatures en PCBs (majoritairement d'origine industrielle) sont globalement faibles dans les sédiments estuariens et dans les flets du projet ECOEST. On observe cependant une contamination significative en PCBs pour les flets de Penzé et de Noyalo. Les signatures en hydrocarbures de type PAHs sont modérées dans les sédiments estuariens ECOEST, avec une exception pour l'Aven qui présente une contamination significative de ses sédiments, probablement liée au port de plaisance et au trafic routier.

5.4 Eléments traces dans les sédiments estuariens et dans le muscle de poisson

Eléments traces dans les sédiments estuariens

Les éléments traces représentent les 80 éléments chimiques constituant la croûte terrestre, avec une concentration individuelle inférieure à 0,1 %. On les différencie des éléments majeurs (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, Ti, H, P, Mn) qui représentent 99,4% de la composition totale. On parlera d'éléments traces de types métaux (Cd, Cr, Zn, Pb, Cu, ...) et non métaux

(As, Se, B) dont la toxicité dépendra de leurs concentrations et de leurs formes chimiques (spéciation). Notons un problème majeur dans l'environnement : les métaux liés aux actions anthropiques (par les fertilisants, fumiers, boues d'épuration, composts urbains... par les apports atmosphériques de poussières ou aérosols... ou par une pollution localisée massive à partir d'une source industrielle) sont parfois présents dans l'environnement sous des formes assez réactives qui peuvent être dangereuses (par exemple liées aux matières organiques) ; les métaux par apports naturels étant souvent immobilisés sous des formes chimiques plus ou moins inertes (par exemple adsorbés sur les oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse). On souligne ici l'importance des formes chimiques des éléments traces métalliques dans l'environnement qui les rendent plus ou moins biodisponibles, et donc plus ou moins bioaccumulables dans les organismes vivants.

Les analyses des éléments traces dans le projet ECOEST sont présentés dans les tableaux 3 & 4, ainsi que dans les figures 6 & 7. Les analyses sur les éléments traces dans les sédiments (Figure 6) mettent clairement en évidence de fortes concentrations en éléments traces métalliques (Cd, Cu, Pb, Zn) dans le sédiment de la Douffine, cette multi-contamination métallique étant liée à d'anciennes mines de plomb argentifère dans le Bassin de l'Aulne, ainsi qu'à d'autres activités industrielles actuelles (Chiffolleau 2017).

Eléments traces dans les sédiments

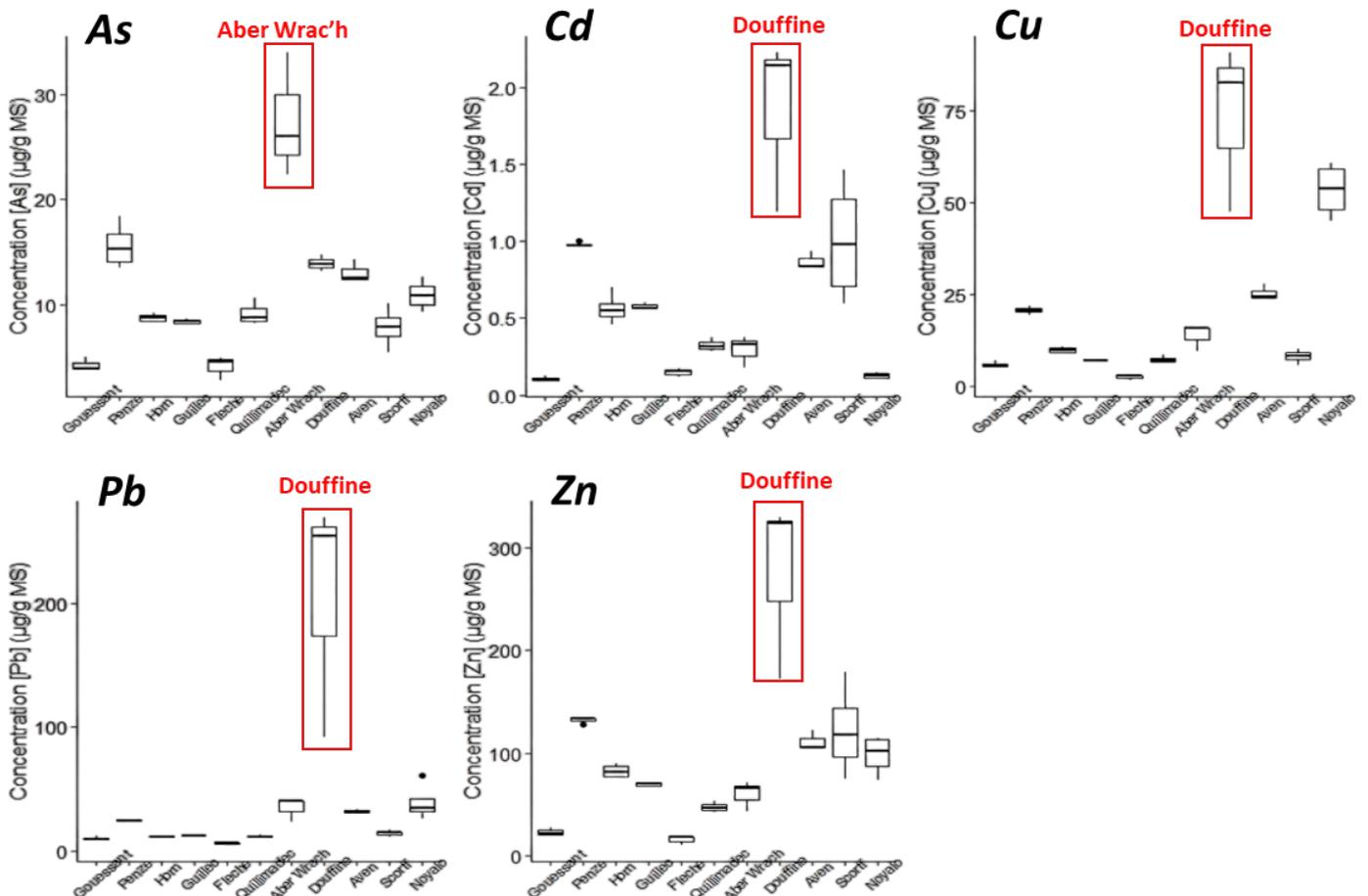


Figure 6. Concentrations en éléments traces dans les sédiments estuariens.

On remarque par ailleurs des éléments traces en quantité soutenue en Penzé, particulièrement pour As, Cd et Zn (Fig. 6) ; cette variation atypique relativement aux autres bassins à caractère agricole suggère une signature métallique qui pourrait être en lien avec l'activité des carrières sur ce bassin versant. On ne peut écarter ici une nature géologique particulière du bassin de la Penzé. Globalement les concentrations d'éléments traces sont modérées pour les autres estuaires: Gouessant, Horn, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Aven et Scorff ; une situation particulière est identifiée pour l'As qui présente sa plus forte concentration dans le sédiment de l'Aber Wrac'h. L'estuaire de Noyal présente des concentrations souvent atypiques d'éléments traces relativement aux autres estuaires (Fig.6), avec notamment une forte concentration de Cu, qui pourrait être liée à la nature mixte de son bassin versant (zone artisanale et agriculture).

Éléments traces dans le muscle de poisson

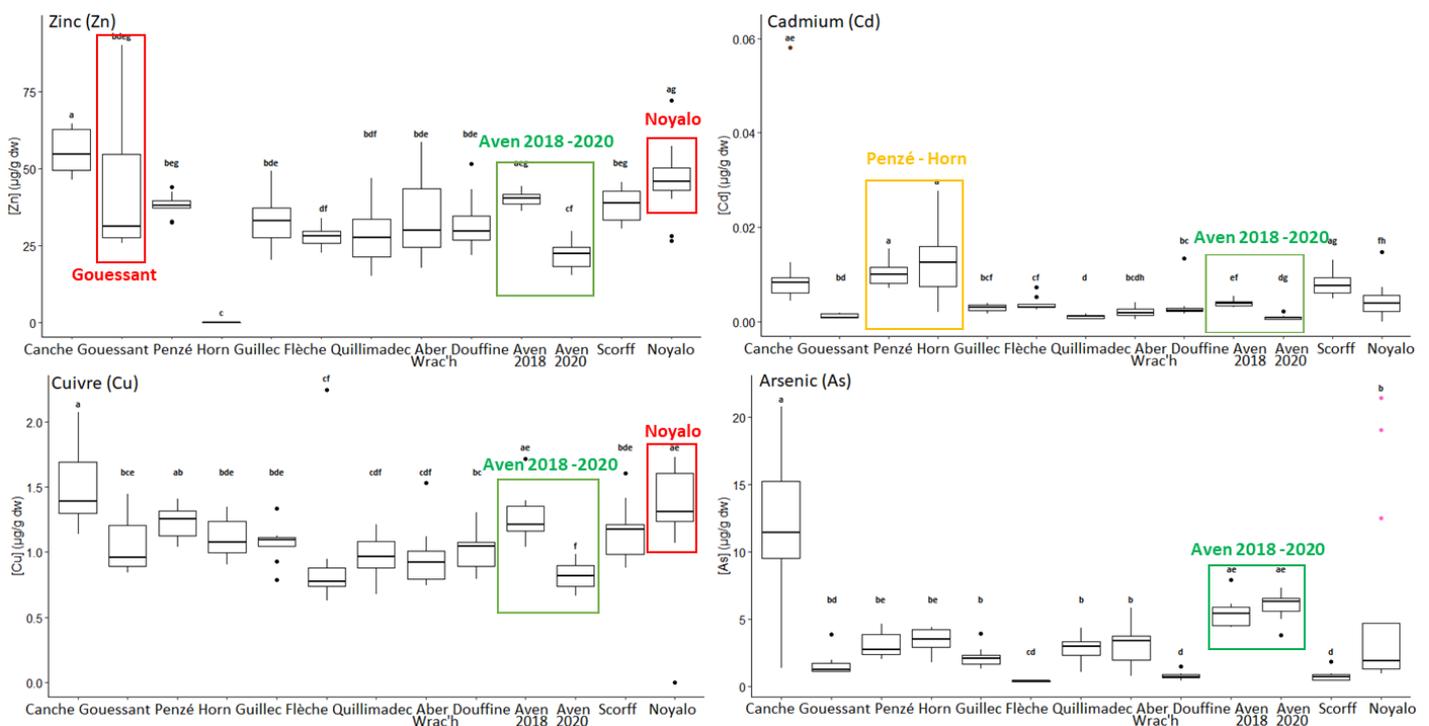


Figure 7. Concentrations en éléments traces dans le muscle de flet

Sur la figure 7 regroupant les concentrations en éléments traces mesurées dans le muscle de flet pour les différents estuaires, nous ne commenterons pas les résultats obtenus pour un bassin versant étudié dans un projet précédent (la Canche), ce système étant localisé dans la Manche. Globalement on remarque sur cette figure que la variabilité inter-estuaires dans les teneurs en éléments traces dans les poissons est nettement plus faible que celle observée au niveau des sédiments (Fig. 7).

Les poissons du Gouessant présentent des concentrations en métaux relativement modérées, avec un résultat atypique pour la teneur en Zinc qui montre une très forte variabilité dans les mesures que nous ne pouvons pas expliquer dans l'immédiat (Fig.7). La forte présence en métaux dans les sédiments de la Douffine ne s'accompagne pas d'une forte concentration de

ces éléments dans le muscle des poissons de ce système ; les flets juvéniles sont donc capables de réguler leurs charges en métaux, au moins au niveau musculaire. De même, la forte présence d'As dans les sédiments de l'Aber Wrac'h ne se traduit par sa forte présence dans les poissons de cet estuaire (Fig.7). On observe donc un certain découplage entre la présence des éléments traces dans le sédiment vs dans le poisson.

Les estuaires de Penzé et Horn montrent les concentrations les plus élevées en Cd dans le poisson; elles pourraient être liées à des pratiques agricoles spécifiques de ces systèmes avec potentiellement l'usage intensif d'engrais phosphatés riches en Cd, notamment pour la production de pommes de terre en nette augmentation ces dernières années. On note aussi pour la Penzé, un possible impact de l'activité des carrières sur la qualité de l'eau. Notons que les poissons de Noyal sont caractérisés par des teneurs élevées de Zn et Cu qui pourraient potentiellement être reliées à l'activité artisanale sur son bassin versant (Fig.7).

La situation de l'Aven est particulièrement intéressante, car elle permet d'explorer en partie une variabilité interannuelle dans la réponse du poisson à son environnement ; deux analyses ayant été menées sur cet hydrosystème en 2018, puis en 2020. On remarque figure 7 une baisse significative de la présence de Zn, Cd et Cu dans le poisson de l'Aven d'une année à l'autre. Les deux pêches de flets ont été menées en 2018 et 2020 sur le même secteur de l'estuaire de l'Aven (sur un linéaire de 150 m). On suggère que des conditions hydroclimatiques différentes entre les deux années ont pu conduire à une modification de l'état physiologique du poisson et/ou de la biodisponibilité de certains métaux de l'estuaire pour le poisson ; ces deux hypothèses pouvant expliquer ce différentiel interannuel de charge métallique dans le poisson. On observe par contre, sur les deux années 2018 et 2020 des concentrations fortes et stables de l'As dans les poissons de l'Aven (Fig.7). Nous aurons l'occasion dans les chapitres qui suivent de continuer à explorer cette variabilité interannuelle.

Résumé sur les éléments traces dans les sédiments estuariens et dans le muscle du flet

Les dosages d'éléments traces (ET) dans les sédiments estuariens ont mis en évidence de fortes concentrations en différents métaux (Cd, Cu, Pb, Zn) pour la Douffine, reliées à la contamination historique des eaux de l'Aulne par l'activité minière. Des contaminations significatives et atypiques pour As, Cd et Zn ont été détectées pour la Penzé ; elles pourraient être en lien avec les activités des carrières et/ou à la nature géologique particulière de ce bassin versant. Les autres estuaires présentent des concentrations en ET globalement modérées, avec cependant une contamination significative en As et Cu, respectivement pour les sédiments de l'Aber Wrac'h et de Noyal.

Les dosages d'éléments traces dans le muscle de flet montrent une contamination globalement faible sur Gouessant, Douffine et Aber Wrac'h, avec un découplage net entre les dosages des ET dans poisson vs sédiment. Penzé et Horn présentent une contamination significative du poisson par le Cd, qui pourrait être liée aux pratiques agricoles. Des teneurs significatives en Zn et Cu ont été détectées pour les poissons de Noyal et pourraient être reliées aux activités artisanales sur ce bassin versant. Une variabilité interannuelle a été observée pour les concentrations en Zn, Cd et Cu dans le poisson de l'Aven, les valeurs en As restant significatives et stables dans le temps pour cet hydrosystème.

5.6 Éléments traces et isotopes dans les otolithes de poisson

Rappelons que les otolithes sont deux formations calcifiées que l'on trouve de part et d'autre du cervelet chez les poissons (Fig. 8). Ces formations sont associées à l'oreille interne du poisson et jouent un rôle important dans l'équilibration ; elles présentent une caractéristique d'intérêt majeur par leur croissance continue tout au long de la vie du poisson, sans résorption ni remaniement de la naissance à la mort de l'individu. Les otolithes sont particulièrement précieux pour produire du diagnostic sur l'état de santé des hydrosystèmes, car ce sont des enregistreurs de nombreux paramètres environnementaux durant une période longue de 7 mois, pour les flets juvéniles capturés dans le projet ECOEST.

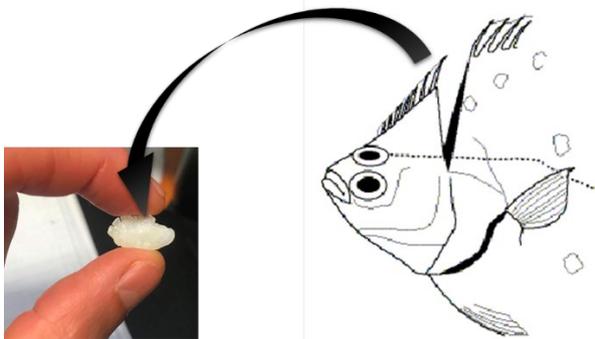


Figure 8. Prélèvement d'un otolithe au niveau de la boîte crânienne d'un poisson plat.

La composition en éléments traces et en isotopes stables a été analysée sur 10 flets par estuaire, en considérant l'otolithe entier, ceci pour intégrer dans nos analyses une signature globale sur toute la vie du poisson. Les otolithes peuvent contenir de nombreux éléments traces (Li, Sr, Ba, Mn,..) et des métaux comme Hg et Pb (Hüssy et al. 2021). Tous ces éléments traces sont analysés pour reconstruire les changements environnementaux qu'un poisson a pu connaître dans sa vie, et pour détecter une exposition possible aux polluants (Halden & Friedrich 2008).

Analyse des éléments traces dans l'otolithe

Les analyses des éléments traces dans l'otolithe ont montré que deux éléments majeurs pouvaient caractériser l'habitat du poisson en estuaire : strontium (Sr) et manganèse (Mn). Le rapport Sr/Ca dans les otolithes est ainsi communément utilisé comme un indicateur de la salinité de l'eau et de la migration possible du poisson (Panfili et al 2015 ; Zimmerman 2011, 2005). Rappelons que les flets sont capturés dans les estuaires ECOEST qui peuvent présenter des variations inter-estuariers non négligeables de leurs salinités moyennes. La terminologie suivante sera utilisée dans la suite de ce rapport : oligohalin ($0,5 < \text{salinité} < 5 \text{ g/L}$) - mésohalin ($5 < \text{salinité} < 18 \text{ g/L}$) - polyhalin ($18 < \text{salinité} < 30 \text{ g/L}$).

Les concentrations en Sr les plus fortes dans les otolithes de flet sont clairement observées pour l'Aven ($1600\text{-}1800 \mu\text{mol} / \text{mol Ca}$) ce qui suggère un environnement polyhalin (Fig.9). Les valeurs moyennes de Sr pour Penzé, Horn, Quillimadec, Aber Wrac'h, Scorff ($800\text{-}1100 \mu\text{mol} / \text{mol Ca}$) permettent de les classer dans un environnement mésohalin. Enfin, les valeurs les

plus faibles de Sr dans l'otolithe pour Gouessant, Guilec, Flèche, Douffine, Noyal (420-650 $\mu\text{mol} / \text{mol Ca}$) les assimilent à un environnement oligohalin (Fig.9).

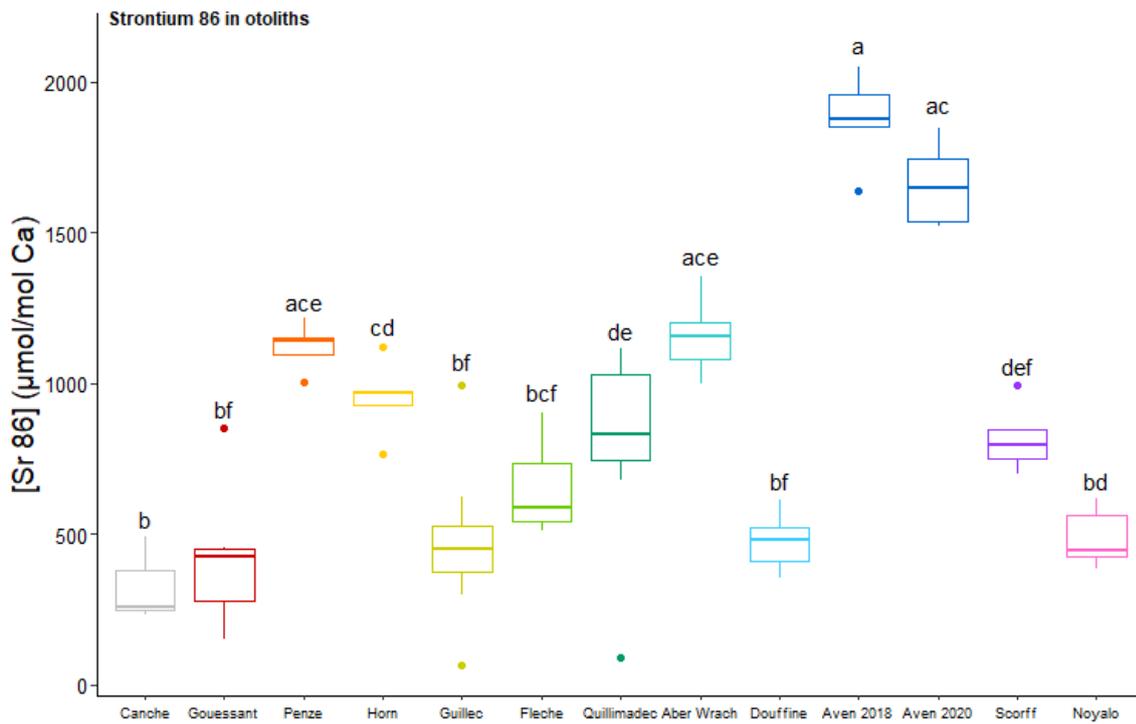


Figure 9. Teneurs en strontium (Sr) dans les otolithes du flet

Le rapport Mn/Ca dans l'otolithe de poisson est classiquement utilisé comme un indicateur de l'hypoxie (ie d'un déficit en oxygène) dans une masse d'eau (Jiang et al. 2022 ; Limburg & Casini 2019 ; Limburg et al. 2015 ; Thorrold & Shuttleworth 2011). Ce rapport Mn/Ca dans l'otolithe de flet montre des valeurs fortes pour Gouessant, Douffine, Scorff et Noyal (21 – 36 $\mu\text{mol} / \text{mol Ca}$) témoignant d'évènements hypoxiques fréquents dans ces hydrosystèmes (Fig. 10). Les autres estuaires sont a priori peu affectés par l'hypoxie chronique.

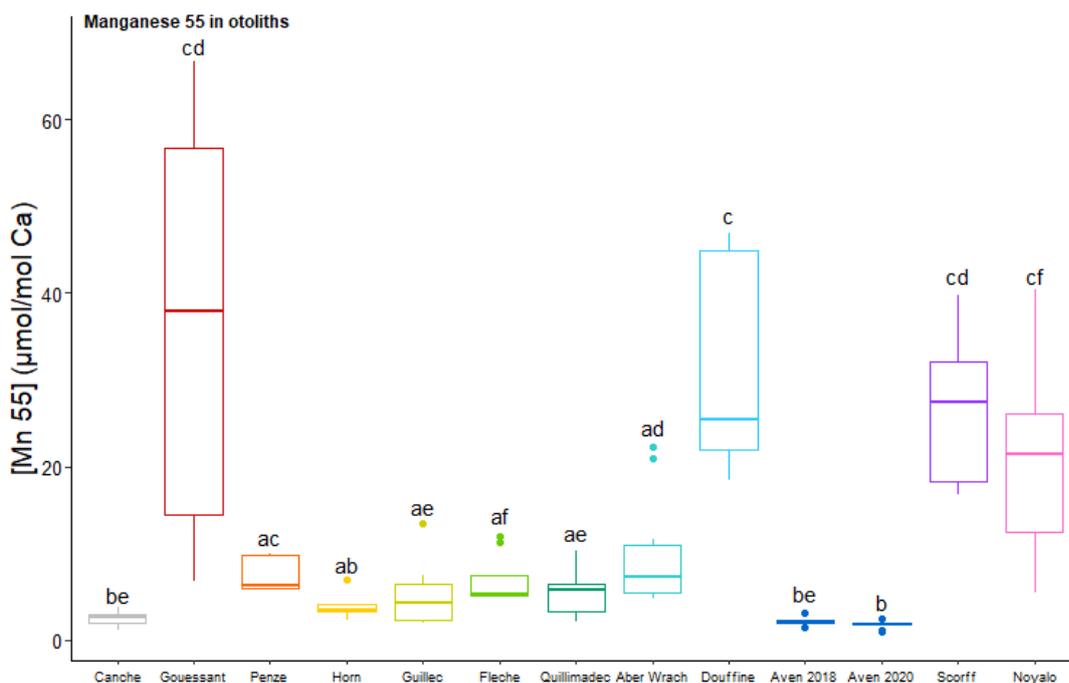


Figure 10. Teneurs en manganèse (Mn) dans les otolithes du flet

Analyse des isotopes dans l'otolithe

Les rapports isotopiques stables de l'oxygène ($\delta^{18}\text{O}$) et du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) sont communément analysés dans les otolithes de poisson. La composition en $\delta^{18}\text{O}$ de l'otolithe est un indicateur de la salinité, et peut être aussi utilisé pour reconstruire la température de l'eau (Reis-Santos et al. 2023). La composition en $\delta^{13}\text{C}$ de l'otolithe est considérée comme un indicateur très pertinent du taux d'activité métabolique du poisson dans son milieu naturel (Chung et al. 2019) ; un fort métabolisme est associé à une forte respiration et donc à une incorporation plus élevée de carbone métabolique dans le biominéral du poisson, conduisant à des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatives (Martino et al. 2019).

Des analyses sur les isotopes $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$, sur des otolithes *in toto* de flet, ont été menées sur les différents estuaires ECOEST (Fig.11).

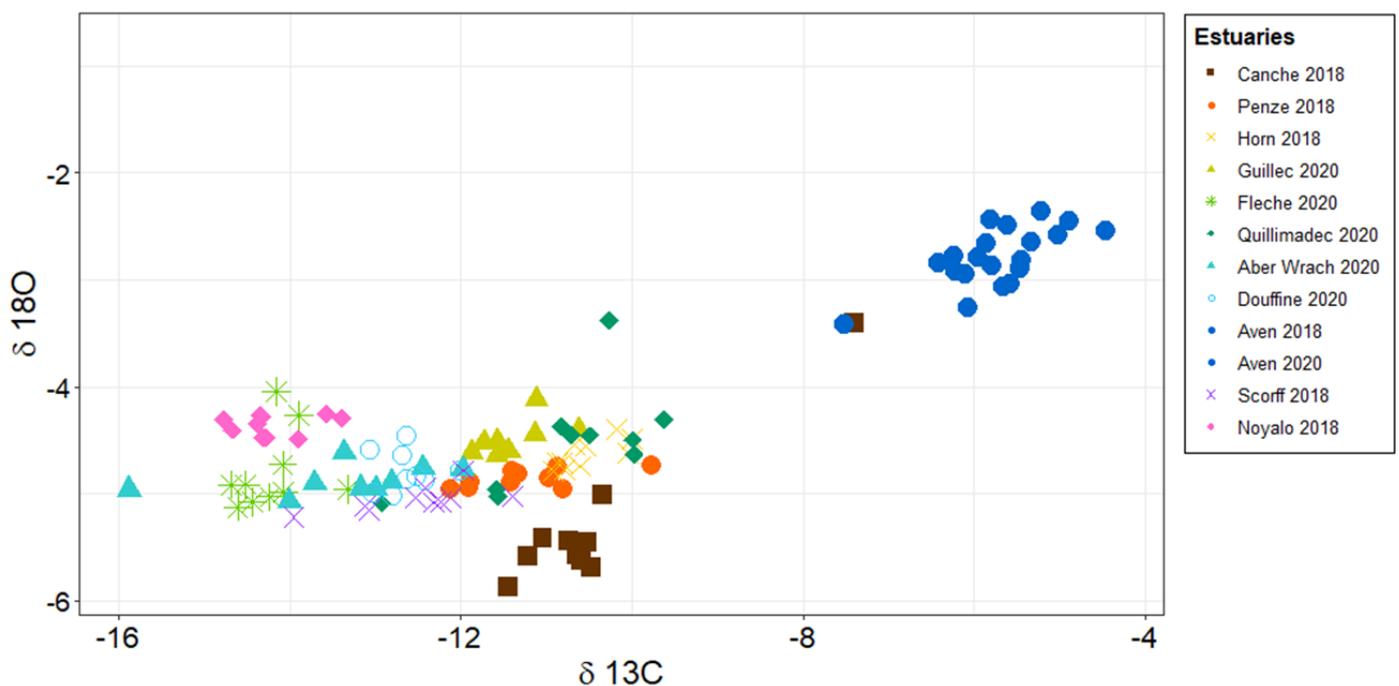


Figure 11. Analyse des isotopes de l'oxygène ($\delta^{18}\text{O}$) et du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) les otolithes du flet

De manière concordante avec les teneurs en strontium dans l'otolithe, la forte signature en $\delta^{18}\text{O}$ pour les poissons de l'Aven (en bleu à droite du diagramme) confirme le caractère polyhalin de l'habitat du flet dans cet hydrosystème (Fig.11). Les autres estuaires positionnés plus à gauche sur la Figure 11, présentent des valeurs plus faibles de $\delta^{18}\text{O}$; les habitats du flet y sont moins salés (environnements méso et oligohalins).

Dans notre étude, nous considérons que les signatures en $\delta^{13}\text{C}$ dans l'otolithe reflètent essentiellement le taux d'activité métabolique du poisson, car les flets juvéniles se nourrissent essentiellement sur le même niveau trophique et sur les mêmes proies dans les différents estuaires. Nous suggérons donc que les valeurs enrichies en $\delta^{13}\text{C}$ pour les flets de l'Aven situés à droite de la Figure 11 sont vraisemblablement liés à un taux d'activité métabolique réduit du poisson, dans un système peu stressé. Les niveaux les plus appauvris en $\delta^{13}\text{C}$ sur la partie

gauche de la Figure 11, particulièrement ceux entre -16 et -14 pour les poissons de la Flèche et de Noyal, pourraient être liés à un accroissement du taux d'activité métabolique du poisson dans un environnement fortement stressé. Cette activation du taux d'activité métabolique permet au poisson de répondre au coût énergétique élevé pour assurer le maintien de ses fonctions vitales, dans les milieux stressés (Sokolova 2013).

Résumé sur les éléments traces et les isotopes dans les otolithes du flet

Les plus fortes valeurs en strontium (Sr) dans les otolithes ont été détectées dans l'estuaire de l'Aven ; elles indiquent que l'habitat du flet dans cet estuaire est marqué par une salinité globalement plus élevée relativement aux autres estuaires de ECOEST. Les valeurs les plus fortes en manganèse (Mn) dans les otolithes observées pour Gouessant, Douffine, Scorff et Noyal reflètent des évènements hypoxiques fréquents dans ces estuaires.

Les fortes signatures en $\delta^{18}\text{O}$ dans les otolithes de flet de l'Aven confirment la salinité plus marquée de l'habitat du flet dans cet estuaire. Les valeurs élevées en $\delta^{13}\text{C}$ détectées dans les otolithes de l'Aven témoignent d'un taux d'activité métabolique réduit pour les flets de cet estuaire, dans un environnement peu stressé. Les autres estuaires présentent une réduction significative du $\delta^{13}\text{C}$ dans leurs otolithes, particulièrement marquée pour la Flèche et Noyal, probablement liée à une augmentation du taux d'activité métabolique du poisson soumis à un environnement stressé.

5.7 Indice de condition du flet et variabilité hydroclimatique interannuelle

Méthodologie et résultats sur l'indice de condition

Nous rappelons ici que les échantillonnages de flets en estuaires, ont été réalisés en deux temps :

15 septembre - 15 octobre 2018, pour les estuaires de Penzé, Horn, Aven, Scorff et Noyal

15 septembre - 15 octobre 2020, pour les estuaires de Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine et Aven.

Vingt flets juvéniles de la cohorte 0+ (7 cm < longueur totale du poisson < 10 cm) ont été capturés par estuaire. Les poissons ont été mesurés (longueur totale LT en cm) et pesés (poids total PT en gr) pour étudier leur état d'embonpoint en utilisant un indice de condition relatif, indépendant de la taille (Teichert et al. 2022). Rappelons que l'état d'embonpoint du poisson est un indicateur de son état de santé global (Laurent et al. 2022 ; Lebigre et al. 2022). La distribution des tailles de flets dans les échantillons pouvant présenter des écarts entre estuaires, l'indice de condition relatif nous permet donc d'annuler l'influence de l'effet taille qui pourrait biaiser la comparaison inter-estuaires. Nous avons donc ajusté un modèle de régression linéaire entre le log du poids total (PT) et le log de la longueur totale (LT) du poisson :

$$\log(\text{PT}) = 3,14 \log(\text{LT}) - 2,14 \quad (R^2 = 0,960, p < 0,001)$$

La distance résiduelle entre le poids individuel du poisson et la ligne de régression est un estimateur de la condition du poisson. Ainsi, les juvéniles avec un résidu positif et négatif sont respectivement plus gros, et plus maigres, que prévu par le modèle.

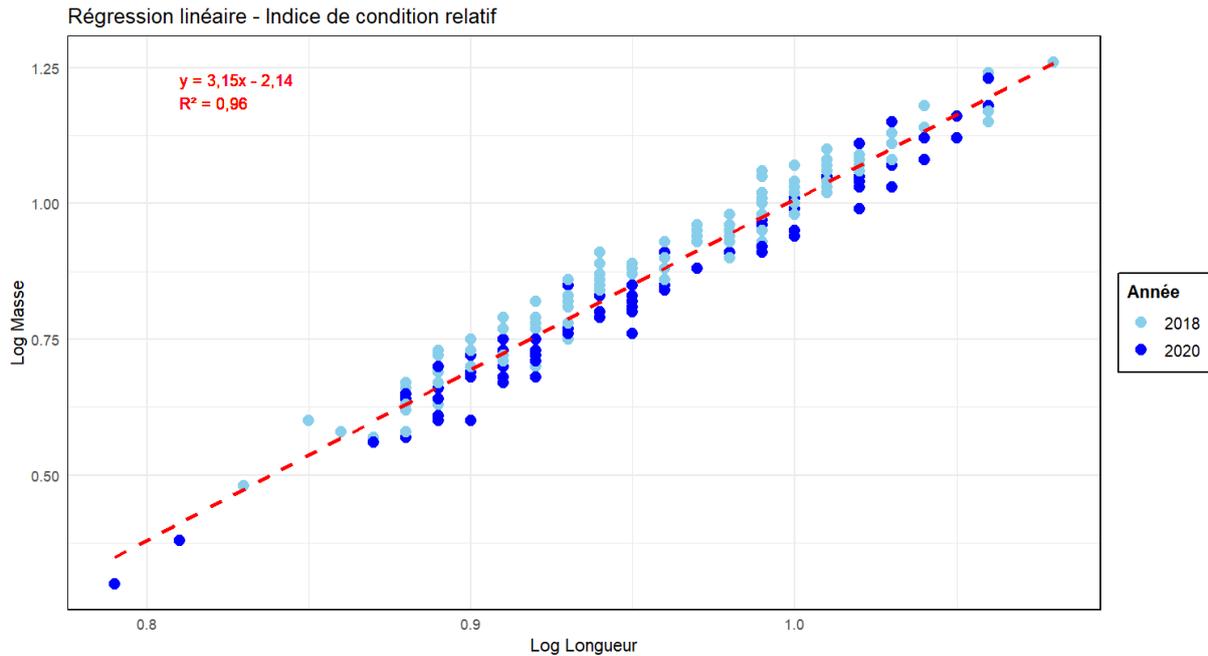


Figure 12. Régression linéaire : log du poids total du poisson en fonction du log de la longueur totale du poisson, pour tous les flets des estuaires ECOEST

Sur la régression linéaire présentant tous les poissons capturés dans le projet ECOEST (Fig.12), on observe clairement des poissons au-dessus de la droite de régression essentiellement capturés en 2018, les poissons capturés en 2020 étant majoritairement localisés en dessous de la droite. Ce résultat indique clairement que les poissons capturés en 2020 sont donc plus maigres que ceux de 2018 ; ils ont donc rencontré des conditions environnementales moins favorables pour assurer le maintien de leurs réserves corporelles.

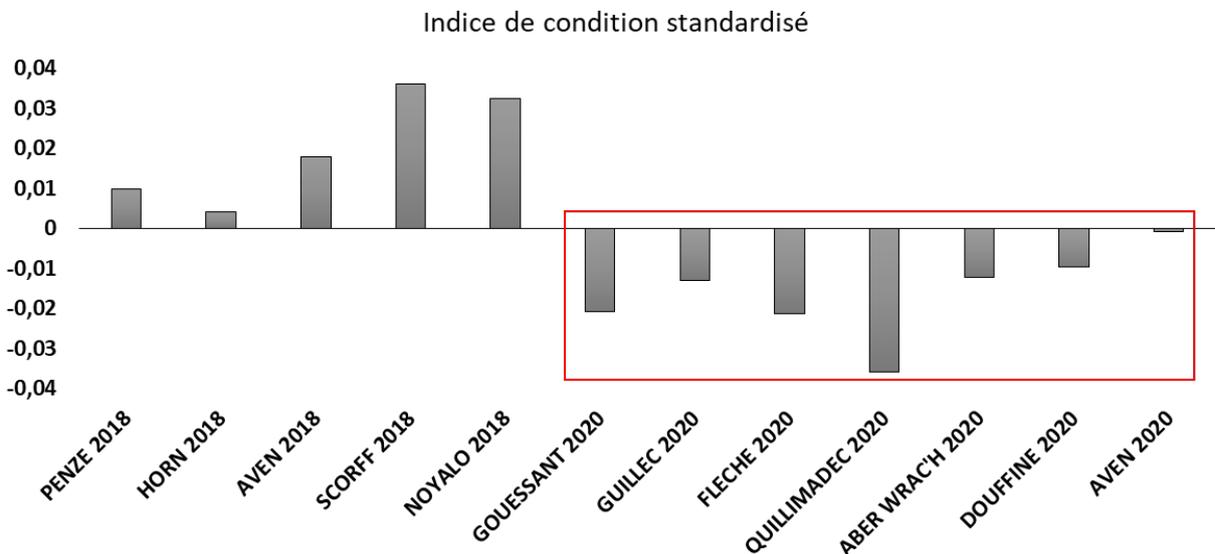


Figure 13. Indice de condition relatif moyen du flet, estimé par estuaire et par année d'échantillonnage.

Les indices de condition relatif moyens du flet estimés par estuaire et par année d'échantillonnage (Fig.13) permettent de souligner à nouveau la perte générale de l'état d'embonpoint des flets de 2018 à 2020, passant de valeurs positives à des valeurs négatives.

Si on considère chaque année individuellement, on observe en 2018 un déficit net de l'indice de condition pour Penzé et Horn relativement à Aven, Scorff et Noyal ; en 2020 le déficit de l'indice de condition le plus net est observé pour Gouessant, Flèche et Quillimadec, les poissons de l'Aven présentant le meilleur indice de condition (Fig.13). Une réduction nette de l'état d'embonpoint du flet en Penzé, Horn, Gouessant, Flèche et Quillimadec reflète une situation de multistress chronique pour les poissons dans ces milieux estuariens qui affecte leurs capacités à maintenir leurs réserves énergétiques.

L'indice de condition élevé en 2018 pour les flets de Noyal (Fig.13) peut paraître surprenant au vu du mauvais état général de cet hydrosystème (valeurs soutenues en ammonium dans l'eau, présence significative de PCBs, Zn et Cu dans le muscle du flet, hypoxie chronique). La très forte eutrophisation de cet hydrosystème se traduit visuellement par une surabondance de macro-invertébrés polluo-tolérants de type gammare, comme proies disponibles pour le flet ; ces proies abondantes contribuent très probablement au maintien d'un indice de condition fort pour le poisson, dans cet écosystème dégradé. Dans certains systèmes estuariens très eutrophisés, on peut ainsi détecter le plus fort indice de condition du poisson dans le site considéré comme le plus pollué (Blasina et al. 2020).

Variabilité hydroclimatique interannuelle

Pour tenter d'interpréter cette différence notable dans l'indice de condition du flet en 2018 vs 2020, nous avons comparé les variables hydroclimatiques disponibles pour la Région Bretagne pour ces deux années, avec la collaboration de Pierre Brigode (ENS - Géosciences Rennes). Les données de débits moyens mensuels pour les stations hydrométriques disponibles et les températures de l'air moyennes mensuelles ont été obtenues à partir des sites suivants :

- débits : HydroPortail (<https://hydro.eaufrance.fr/>)
- températures de l'air : réanalyse SAFRAN de Météo-France ([Vidal et al., 2010](https://meteo.data.gouv.fr/datasets/donnees-changement-climatique-sim-quotidienne/) ; <https://meteo.data.gouv.fr/datasets/donnees-changement-climatique-sim-quotidienne/>) agrégées à l'échelle des bassins versants.

La figure 14 présente les débits moyens estivaux des rivières (de Juin à Septembre inclus), estimés en anomalie par rapport à la valeur moyenne sur la période analysée (1990-2022), ceci pour les stations hydrométriques disponibles associées au projet ECOEST.

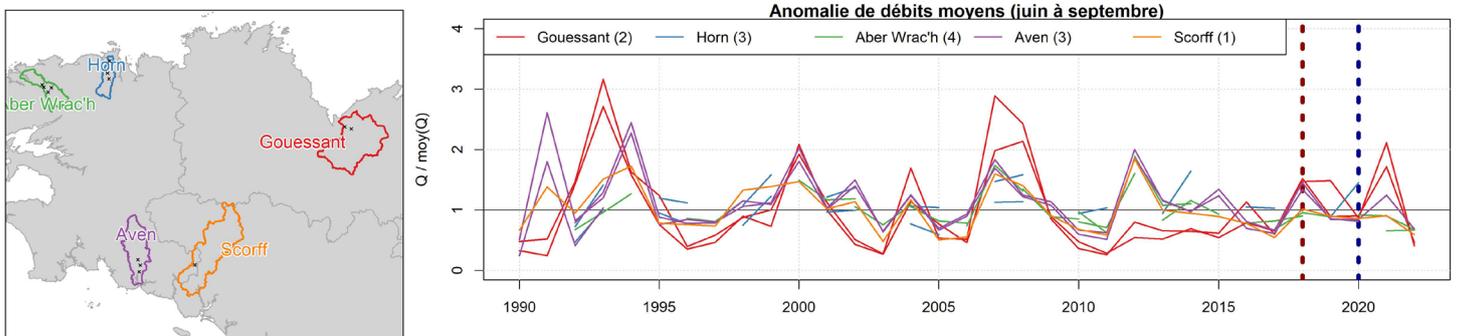


Figure 14. Débits moyens estivaux (de Juin à Septembre inclus), exprimés en anomalie par rapport à la valeur moyenne sur la période analysée : 1990-2022 (pour les cinq hydrosystèmes : Gouessant, Horn, Aber Wrac'h, Aven et Scorff). Années 2018 & 2020 identifiées en pointillés.

On remarque une relative cohérence pour le signal interannuel pour les cinq bassins versants, avec une saison estivale 2018 plus humide que celle de 2020 (Fig.14). Notons de plus que les deux années d'échantillonnage (2018 et 2020) ne semblent pas être des années atypiques, relativement à l'ensemble du jeu de données.

Pour les années 2018 et 2020, les débits moyens mensuels ont été aussi analysés, ainsi que les températures de l'air mensuelles moyennes, bonnes indicatrices de la température de l'eau (Fig.15).

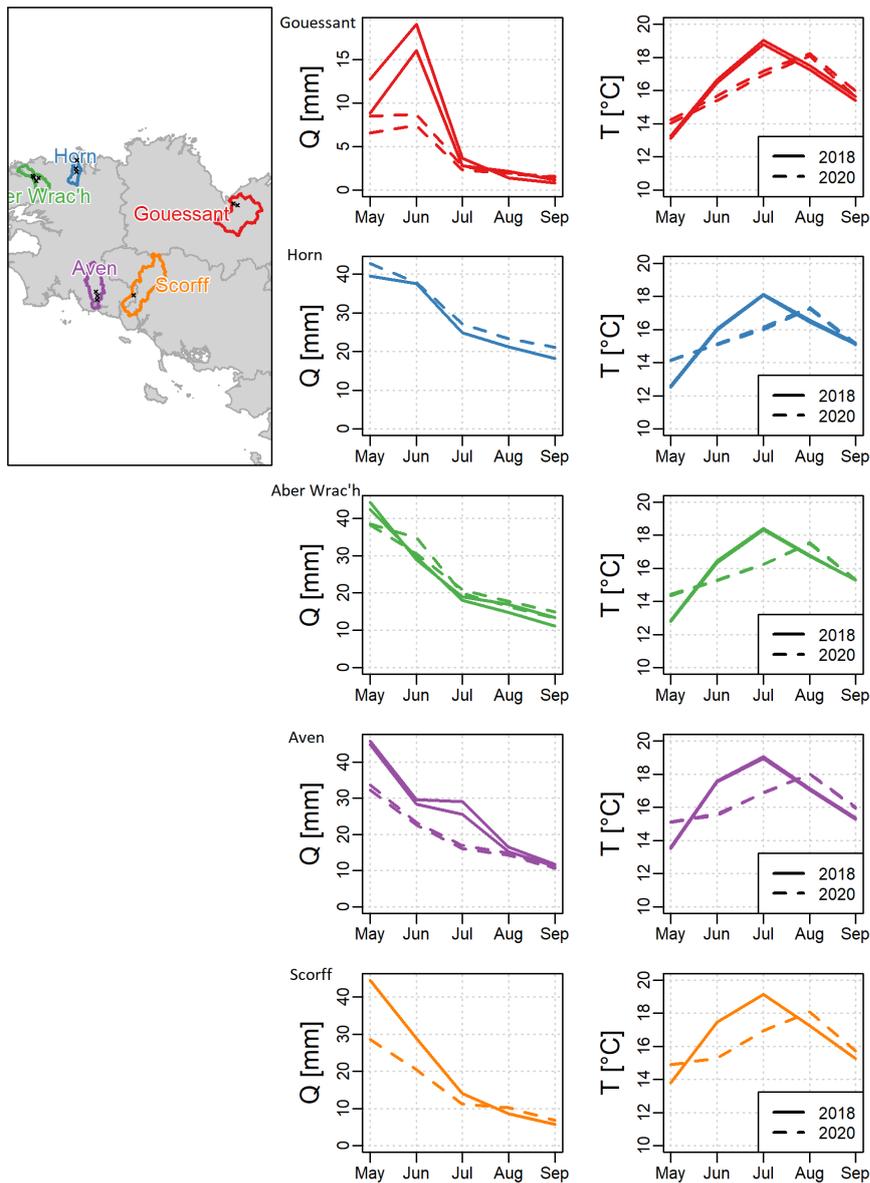


Figure 15. Débits moyens mensuels (Q en mm) et températures de l'air moyennes (T en °C) de Mai à Septembre, pour les années 2018 et 2020.

On peut identifier des débits plus forts en début de saison estivale (Mai-Juin) 2018 vs 2020 pour Gouessant, Aven et Scorff ; les débits étant similaires pour les deux années pour Horn et Aber Wrac'h (Fig.15). Le signal de température est homogène sur l'ensemble de la Bretagne, avec un début d'été plus chaud en 2018 vs 2020 (Fig.15).

Nous émettons l'hypothèse que les débits plus soutenus en Mai-Juin 2018 vs 2020 ainsi que les températures de l'air plus élevées en Juin-Juillet 2018 vs 2020, sont de probables indicateurs d'une meilleure productivité biologique à l'embouchure des estuaires bretons pour la première partie de l'été, période d'acquisition maximale de l'énergie pour les flets juvéniles. Cette hypothèse est étayée par des travaux d'Ifremer à l'embouchure de l'estuaire de la rivière de Daoulas (Rade de Brest) qui ont observé des pics de fluorescence plus marqués dans les eaux au printemps, soit une productivité biologique plus forte de cet hydrosystème en 2018 vs 2020 (Pouvreau et al. 2024). La deuxième partie de l'été (Août-Septembre) est communément considérée comme une période plus stressante pour les poissons juvéniles estuariens quel que soit l'hydrosystème considéré (Lefebvre du Prey et al. 2023) ; elle est caractérisée par des conditions nettement moins favorables pour l'acquisition d'énergie pour le poisson (étiage, concentration des polluants, disponibilité en nourriture plus réduite par augmentation de la compétition interspécifique, pics possibles de température, risques hypoxiques accrus).

Au final, nous suggérons que la cohorte de flet 0+ (recrutée au mois de Mai en estuaire, et pêchée en Septembre) maintient ses réserves énergétiques tout en présentant une forte croissance, principalement lors de la première moitié de la saison estivale. Les conditions plus stressantes de fin d'été, conduisent probablement le flet à maintenir une croissance forte au dépend de ses réserves énergétiques, en Août-Septembre ; en effet, on ne détecte pas de différentiel de croissance marqué entre les poissons des différents estuaires ECOEST, quelle que soit l'année considérée. Le différentiel net inter-estuaire de l'indice de condition du flet 0+ suggère donc que ce poisson à l'état juvénile investit principalement son énergie dans sa croissance somatique plus que dans ses réserves corporelles en situations stressantes, à l'inverse du bar juvénile en estuaire (Teichert et al. 2023).

Résumé sur l'indice de condition du flet et sur la variabilité hydroclimatique interannuelle

L'état d'embonpoint du flet a été estimé dans les différents estuaires ECOEST, en calculant un indice de condition relatif qui reflète l'état de santé global du poisson. Les cinq estuaires montrant un déficit net de l'indice de condition du flet en 2018 (Penzé et Horn) et en 2020 (Gouessant, Flèche, Quillimadec) présentent des situations de stress chronique affectant la capacité du poisson à maintenir ses réserves énergétiques.

Une baisse générale de l'indice de condition du flet de 2018 à 2020, nous a conduit à analyser la variabilité hydroclimatique interannuelle qui pourrait expliquer cette différence. Des éléments sur les débits des rivières et les températures de l'air suggèrent une meilleure productivité biologique des estuaires en 2018 vs 2020, particulièrement en début de saison estivale.

6. Intégration des données (géographie, hydrobiologie, chimie des polluants et des éléments traces, biologie du flet)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode classiquement utilisée en analyses de données, pour explorer sans a priori un tableau de données constitué exclusivement de variables quantitatives. Nous avons mis en œuvre une ACP, afin d'intégrer les variables, décrites dans les chapitres précédents sur les onze hydrosystèmes ECOEST (Fig. 16 & 17):

- Géographie (occupation et usages des sols dans les bassins versants) ;
- Hydrobiologie (charges en azote inorganique dans les eaux de surface) ;
- Chimie (pesticides dans les eaux de surface, polluants organiques et éléments traces dans les sédiments) ;
- Réponses biologiques du flet (polluants organiques dans le muscle, éléments traces dans le muscle et dans les otolithes, isotopes stables dans les otolithes, indice de condition).

L'analyse en Composantes Principales (ACP) nous permet de décrire les inter-relations entre les variables géographiques, chimiques et biologiques, représentées sous la forme de vecteurs distribués dans un cercle de corrélation (Fig.16) ; ces variables permettant de structurer l'information et d'expliquer la distribution des individus (hydrosystèmes ECOEST) dans le plan factoriel (Fig. 17). Précisons que les données sur l'Aven qui ont été intégrées dans cette ACP correspondent aux données acquises en 2020.

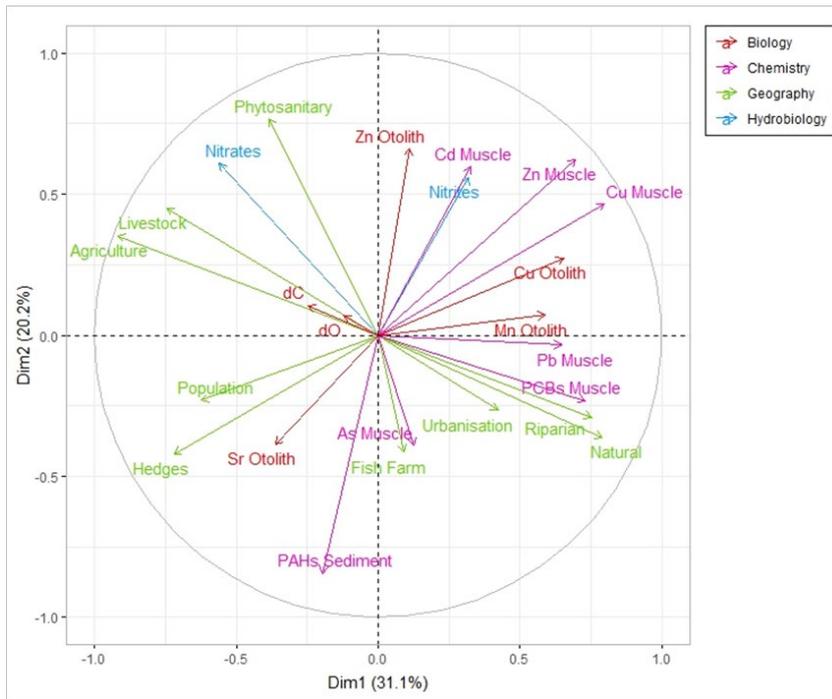


Figure 16. Analyse en composantes principales (axe 1 – axe 2) : cercle de corrélations sur les principales variables environnementales mesurées dans les hydrosystèmes ECOEST. Traduction et informations complémentaires sur certaines variables : Phytosanitary (pesticides dans les eaux de surface), Livestock (élevage), Hedges (proportion relative de haies), Fish Farm (production piscicole), Riparian (surface relative de la ripisylve).

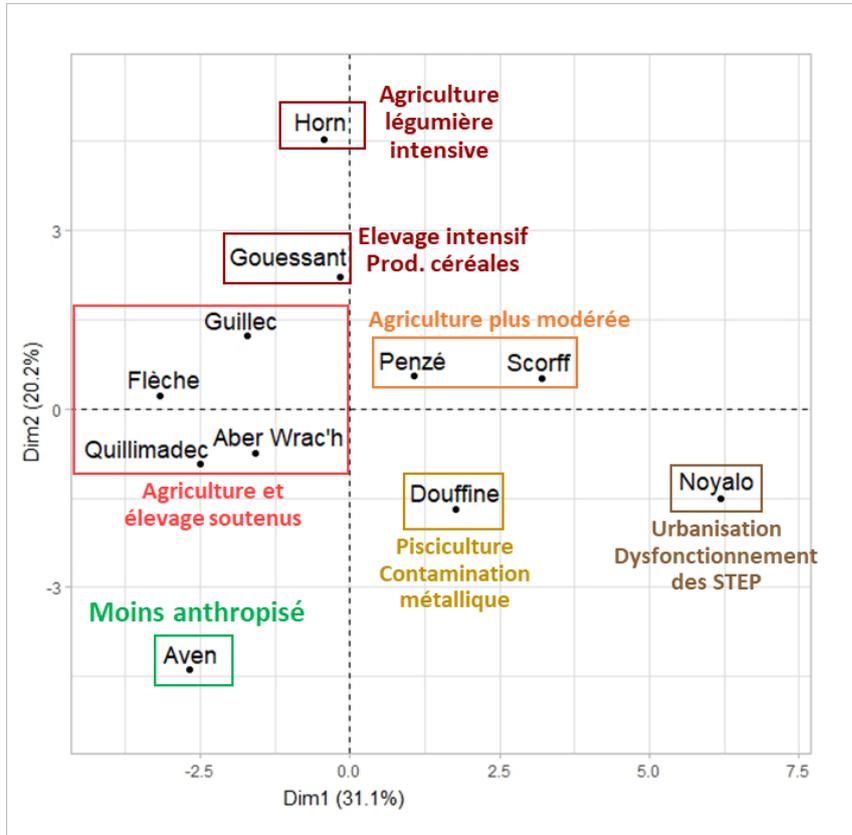


Figure 17. Analyse en composantes principales (axe 1 – axe 2) : Distribution des individus (hydrosystèmes ECOEST avec leurs particularités anthropiques majeures)

De la gauche vers la droite du cercle de corrélations, on passe de bassins versants présentant une activité agricole et des élevages soutenus, vers des bassins présentant une proportion plus importante d'espaces naturels et une ripisylve plus développée (Fig. 16). Globalement, sur la distribution des hydrosystèmes (Fig. 17), on identifie donc sur la gauche des bassins à caractère agricole très prononcé (Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h) vs sur la droite des hydrosystèmes à pression agricole globalement plus modérée (Penzé et Scorff). On remarque très à droite Noyal (Fig.17), un hydrosystème mixte (zone urbanisée artisanale - zone d'agriculture modérée) présentant un risque hypoxique dans son estuaire (Mn élevé dans le flet) ainsi qu'une contamination par des polluants métallique (Cu) et organique (PCBs) dans le poisson. Dans le plan factoriel (Fig.17), on passe d'un hydrosystème à dominante agricole l'Aven en bas de la figure, caractérisé par une proportion relativement importante de haie dans son bassin versant, un habitat plus salin disponible pour le flet (Sr élevé dans l'otolithe du flet), et une signature de PAHs significative dans le sédiment (Fig.16), en opposition avec la partie haute du diagramme, caractérisé par des hydrosystèmes agricoles à productions intensives : production légumière & élevage en amont (Horn), élevage & production de céréales (Gouessant). Notons que ces deux bassins versants hautement productifs (Horn et Gouessant) sont caractérisés principalement par une forte signature en pesticides et des concentrations élevées en azote inorganique (nitrite et nitrate) dans les eaux de surface (Fig.16).

On observe par ailleurs une position très particulière de la Douffine dans le plan factoriel (Fig.17), dans le deuxième quadrant du plan, lié à son activité aquacole particulièrement soutenue.

Résumé sur l'intégration des données (géographie, hydrobiologie, chimie, biologie du flet)

Une analyse en composantes principales (ACP) a été menée sur les variables les plus pertinentes caractérisant les hydrosystèmes ECOEST (géographie des usages dans les bassins versants, hydrobiologie, chimie des pesticides – polluants organiques – éléments traces, réponses biologiques du flet) ; elle a permis de décrire une première typologie des hydrosystèmes, en liens avec leurs principales pressions anthropiques.

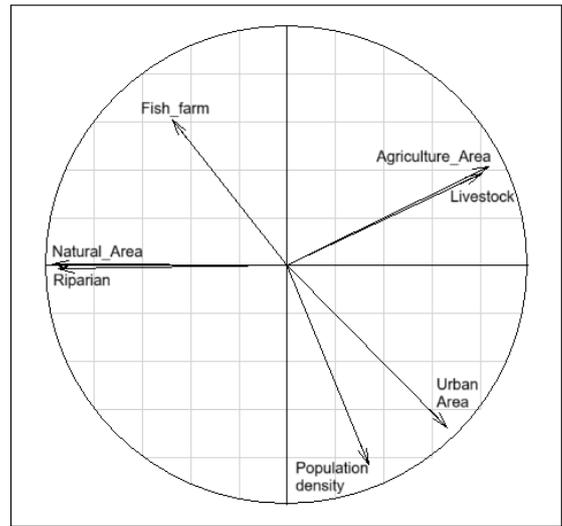
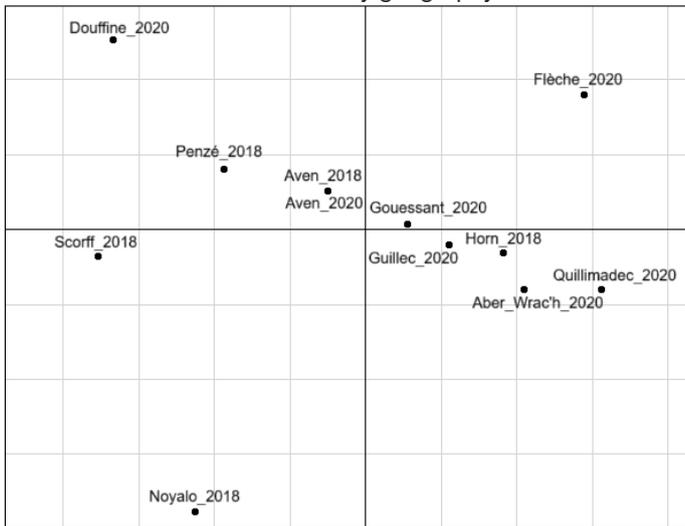
De plus, nous pouvons remarquer dans le descriptif des différentes variables (Chapitres 4 & 5) et dans cette analyse globale par ACP, que l'hydrosystème de l'Aven ne semble pas ou peu affecté par les stressseurs suivants : surcharges en azote inorganique et en pesticides dans les eaux, contamination par les PCBs, risque hypoxique, urbanisation ; il présente par ailleurs un bon état de son bocage, limitant vraisemblablement les flux de polluants des terres agricoles vers la rivière. Nous suggérons donc que sur l'ensemble des onze hydrosystèmes étudiés dans ECOEST, l'Aven est le système le moins impacté par les multiples stressseurs de l'environnement.

7. Pouvoir discriminant de la géographie, chimie et biologie du flet, sur le classement des hydrosystèmes

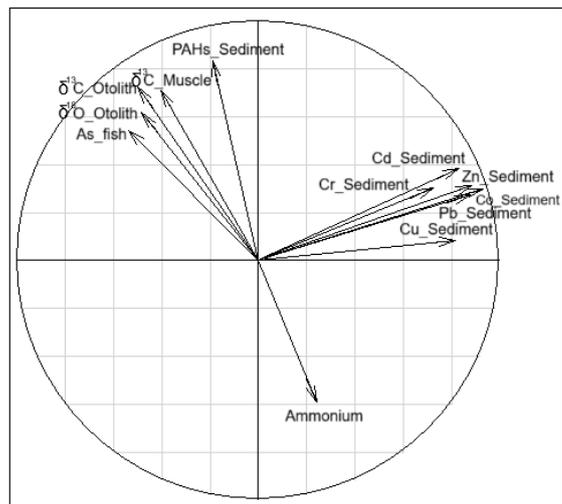
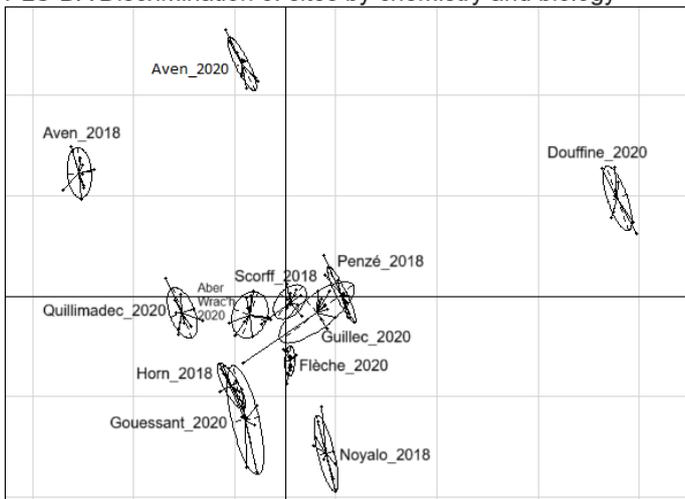
L'analyse discriminante PLS (ou PLS-DA : Partial Least Squares Discriminant Analysis) est une méthode qui permet de savoir si un jeu de données est suffisamment informatif pour classer de façon robuste différents échantillons ou individus (Barker & Rayens 2003). Nous avons donc mis en œuvre une PLS-DA, pour évaluer le pouvoir discriminant des variables les plus

pertinentes (géographiques, chimiques et biologiques) sur le classement des individus, c'est-à-dire les hydrosystèmes ECOEST (Fig. 18).

PLS-DA Discrimination of sites by geography



PLS-DA Discrimination of sites by chemistry and biology



PLS-DA Discrimination of sites by all variables

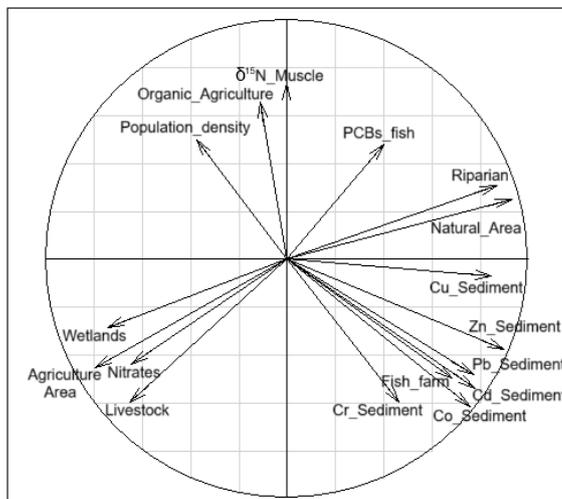
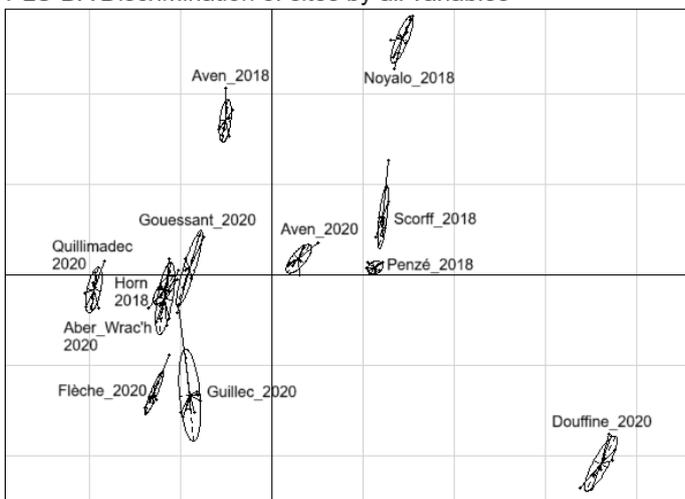


Figure 18. PLS-DA pour estimer le pouvoir discriminant de la Géographie, de la Chimie-Biologie, et de toutes les variables, sur la classification des hydrosystèmes ECOEST (Gauche : distribution des hydrosystèmes dans le plan factoriel / Droite : distribution des variables dans le cercle de corrélations).

Trois PLS-DA successives ont été menées pour rechercher le pouvoir discriminant des variables géographiques, des variables chimiques (regroupant les données sur l'hydrobiologie et la chimie des polluants dans les eaux et les sédiments) & biologiques (mesurées sur le flet), puis de toutes ces variables, pour dresser une typologie des hydrosystèmes ECOEST. Nous avons rappelé dans ces figures l'année d'échantillonnage de chaque hydrosystème (2018, 2020), sachant que l'année 2020 a présenté des conditions globalement moins favorables pour les flets juvéniles dans les estuaires bretons (Chpt 5). Chaque analyse nous a permis d'identifier parmi les différentes variables retenues pour lancer la PLS-DA (géographiques et/ou chimiques et/ou biologiques), les variables les plus discriminantes, c'est-à-dire permettant de séparer au mieux les onze hydrosystèmes bretons.

Discrimination des hydrosystèmes par la géographie (Fig.18 : diagrammes en position haute)

On observe sur la partie droite de la distribution des hydrosystèmes, un groupe de bassins versants (Gouessant, Guillec, Horn, Aber Wrac'h, Quillimadec, Flèche) clairement associés à un usage agricole et à des élevages soutenus (cercle de corrélation), relativement à un groupe à gauche de la distribution (Aven, Penzé, Scorff) présentant une proportion plus importante d'espaces naturels et de ripisylve dans leur environnement. Douffine et Noyalò présentent une localisation un peu marginale par leurs spécificités, respectivement une forte production piscicole, et une densité de population élevée.

Discrimination des hydrosystèmes par la chimie et la biologie (Fig.18 : diagrammes en position médiane)

La Douffine est localisée de manière marginale à droite de la distribution des hydrosystèmes, de par la forte concentration en métaux dans ses sédiments, liée à une contamination par des activités minières historiques et des activités industrielles actuelles dans le bassin de l'Aulne. On peut observer en haut et à gauche du diagramme, l'Aven échantillonné en 2018 et 2020 qui présente des signatures convergentes et élevées dans les otolithes du flet en termes de $\delta^{18}\text{O}$ (salinité moyenne de l'estuaire élevée) et de $\delta^{13}\text{C}$ (activité métabolique du poisson réduite). On identifie aussi dans l'Aven des signatures significatives en PAHs dans le sédiment et en As dans le muscle du flet.

Par ailleurs, un ensemble d'hydrosystèmes très regroupés est localisé sur l'axe horizontal, près du centre du plan factoriel ; les variables chimiques et biologiques ne permettent donc pas de discriminer ces différents systèmes (Quillimadec, Aber Wrac'h, Scorff, Flèche, Guillec, Penzé).

Dans la partie basse de la distribution des hydrosystèmes, on identifie un groupe de bassins versants considérés comme fortement impactés par de multiples stressseurs (Horn, Gouessant, Noyalò) qui présentent une signature élevée en ammonium dans leurs eaux de surface.

Discrimination des hydrosystèmes par la géographie, chimie et biologie (Fig.18 : diagrammes en position basse)

Le premier quadrant sur la distribution des hydrosystèmes (en haut, à droite du diagramme) met en évidence l'importance relative des aires naturelles et de la ripisylve pour Aven, Scorff et Penzé. Noyalò est caractérisée par une contamination significative du flet par les PCBs, ainsi

que par une valeur élevée en $\delta^{15}\text{N}$ dans le muscle de flet; nous avons rajouté cette dernière variable dans nos analyses PLS-DA, les valeurs fortes de ce paramètre indiquant une eutrophisation soutenue liée aux apports urbains en azote (Thibault et al. 2020).

On retrouve sur la distribution des hydrosystèmes (2^{ème} quadrant du plan) une position marginale de la Douffine caractérisée par la charge importante de ses sédiments en métaux, et par une production aquacole élevée. Dans le troisième quadrant de la distribution des bassins, on détecte un ensemble d'hydrosystèmes présentant des activités agricole et élevage soutenues, et une charge importante en nitrates dans les eaux de surface (Quillimadec, Horn, Gouessant, Aber Wrac'h, Flèche, Guillec).

On détecte un certain décalage entre l'Aven échantillonné en 2018 et localisé dans le 4^{ème} quadrant du plan, et l'Aven échantillonné en 2020 et situé à proximité du centre du plan. Ce décalage reflète une certaine variabilité temporelle dans les signatures chimiques et biologiques entre les deux années d'échantillonnage qui est probablement en lien avec la variabilité hydroclimatique inter-annuelle détectée dans les hydrosystèmes bretons (Chpt 5.7).

Résumé sur le pouvoir discriminant de la géographie, chimie et biologie du flet sur le classement des hydrosystèmes ECOEST

Une analyse discriminante (PLS-DA) a été menée pour évaluer le pouvoir discriminant de différentes variables (géographie, chimie et biologie, toutes les variables) pour classer les hydrosystèmes ECOEST.

Les variables géographiques les plus pertinentes sont :

- intensité de l'élevage
- proportions relatives dans les bassins versants des surfaces agricoles, des espaces naturels, de la ripisylve
- production piscicole
- densité de population.

Les variables chimiques et biologiques les plus discriminantes sont :

- concentrations en métaux et en PAHs dans les sédiments
- concentrations en ammonium et en nitrate dans les eaux de surface
- concentrations en As, Cd, Cu, Zn et PCBs dans le muscle de flet
- concentrations en $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ dans l'otolithe de flet.

L'estuaire de l'Aven demeure, dans cette analyse PLS-DA, l'hydrosystème le moins impacté par les multiples stressseurs de l'environnement, relativement aux autres systèmes ECOEST. On observe pour l'Aven un certain décalage entre les signatures chimiques et biologiques de l'année 2018 à l'année 2020 ; ce décalage étant probablement lié à la variabilité hydroclimatique interannuelle.

8. Recherche sur les réponses moléculaires du flet aux multiples stressseurs estuariens, par la protéomique haut débit sur le foie

Nous avons atteint le premier objectif du projet ECOEST en réalisant une première typologie sur nos onze hydrosystèmes (Chapitres 6 & 7). Nous avons ainsi identifié : (1) différents stressseurs environnementaux dans ces écosystèmes, et (2) le système le moins impacté par les multiples stressseurs, l'Aven, que nous allons considérer comme un «système de référence» dans la suite de nos travaux.

Notre second objectif a été ici d’analyser les réponses moléculaires du flet aux stressseurs, au niveau du foie, un organe d’importance majeure pour la gestion énergétique, les processus de détoxification, et de multiples voies métaboliques. Les approches de type « Omique », et particulièrement la protéomique haut débit (dite protéomique Shotgun), permettent d’identifier l’ensemble des altérations métaboliques d’un organisme soumis à de multiples stressseurs de l’environnement ; ces approches « Omiques » étant mises en œuvre de manière croissante dans le contexte de la surveillance des milieux aquatiques (Borcier et al. 2019 ; Jeffrey et al. 2019 ; Gouveia et al. 2019 ; Martyniuk 2018 ; Bahamonde et al. 2016).

Sachant qu’un différentiel hydroclimatique très probable a été observé entre les deux années d’échantillonnage, nous avons conduit nos investigations en protéomique, année par année (soit pour l’année 2018, puis pour l’année 2020). Nous avons ainsi comparé, pour chaque année, l’accumulation différentielle de protéines dans le foie de flet dans les différents hydrosystèmes vs dans le système de référence l’Aven, pour l’année en cours.

La combinaison des différentes métriques environnementales analysées précédemment (géographiques, hydrobiologiques, chimiques, et biologiques sur le flet) avec les résultats de la protéomique devrait nous permettre d’identifier tous les stressseurs majeurs dans chaque hydrosystème. Nous émettons l’hypothèse que la protéomique haut débit, mise en œuvre sur le poisson au niveau individuel, devrait affiner notre approche intégrative : (1) en différenciant des hydrosystèmes a priori similaires, et (2) en qualifiant plus précisément l’état de santé des estuaires ECOEST.

Précisons que les protéomes complets de cinq foies de flet ont été analysés pour chaque estuaire. Par année, environ 1500 protéines ont été identifiées et quantifiées sur tous les échantillons. La quantité d’une protéine donnée est estimée pour le foie de flet dans un estuaire d’intérêt (Y) vs dans l’Aven (X) ; si $Y > X$ (on parlera de dérégulation positive), on calcule le rapport $Tfold = Y/X$, et on le jugera significatif si $Tfold > 1,5$. A l’inverse, si $Y < X$ (on parlera de dérégulation négative), on calcule le $Tfold = X/Y$ en lui affectant par convention un signe négatif ; on le jugera alors significatif si $Tfold < -1,5$.

8.1 Dérégulation de différentes voies métaboliques du flet en 2018 (Penzé, Horn, Scorff, Noyalo vs Aven)

Tableau 6. Nombre de protéines dérégulées dans le foie de flet des estuaires de Penzé, Horn, Scorff et Noyalo vs Aven

	Penzé	Horn	Scorff	Noyalo
Dérégulation positive	118	201	154	313
Dérégulation négative	125	104	83	103

Le nombre de protéines dérégulées positivement entre les estuaires d’intérêt et l’Aven varie de 100 à 300 (Tableau 6). On peut remarquer une dérégulation positive mieux marquée en Horn et Noyalo. Le nombre de protéines dérégulées négativement est relativement proche entre les estuaires d’intérêt et l’Aven (≈ 100). On pourrait suggérer que les effets de multiples stressseurs sont possiblement plus importants pour les poissons de Noyalo-Horn vs Penzé-Scorff. Il faut cependant considérer ces premiers résultats avec précaution, car tous les poissons qui ont contribué à ce tableau sont issus de milieux naturels, ceci impliquant que les poissons du « système de référence » peuvent eux aussi être soumis à un stressseur.

Signatures protéomiques : détoxification vis-à-vis des xénobiotiques (Horn, Noyalo) & dérégulation du cycle de la méthionine (Horn, Noyalo, Scorff)

Une grande partie des biomarqueurs mesurés en écotoxicologie sont liés à des processus de détoxification des organismes en réponse à l'exposition à des xénobiotiques (polluants d'origine anthropique), particulièrement détectés au niveau du foie. Ces processus de détoxification sont généralement classés en deux phases (Hassan et al. 2015). La phase I implique principalement des Oxydases à fonction mixte (MFOs) qui nécessitent une action coordonnée de la protéine P450 avec une NADPH-Cytochrome P450 réductase (Livingstone, 1998). L'activité des MFOs est un biomarqueur bien connu d'exposition à différentes familles de polluants comme PAHs, PCBs et dioxines (Porte et al. 2000 ; Van der Oost et al. 2003).

Le foie des flets de Noyalo et Horn a montré une dérégulation positive de pratiquement toutes les voies métaboliques liées à la détoxification, incluant une NADPH-cytochrome P450 réductase (Tfold = 3, puis 3,6 respectivement pour Horn et Noyalo), comme 10 isoformes différentes de Cytochrome P450 qui peuvent aller jusqu'à un Tfold de 7 pour CYP1A1 à Noyalo. Quatre protéines de type cytochrome P450 ont été dérégulées pour le poissons du Scorff et une seule pour Penzé, ce qui témoigne d'une activité de détoxification nettement plus réduite, dans ces deux hydrosystèmes.

Une tendance similaire a été observée avec la diméthylaniline monooxygénase (souvent appelée monooxygénase contenant une flavine, FMO dans un contexte écotoxicologique) et une époxide hydrolase, deux autres protéines de la détoxification phase I (Peters et al. 1995 ; Schlenk 1998), qui ont aussi été dérégulées pour les flets de Horn et Noyalo, comme d'autres protéines appartenant aux systèmes de détoxification phase II. On retrouve ainsi pour cette phase II que la glutathione S-transferase (GST) et trois UDP-glucuronosyltransferases ont été positivement dérégulées dans Horn et Noyalo. Globalement, ces données montrent que l'estuaire de Noyalo contient probablement une grosse charge en xénobiotiques et particulièrement en polluants organiques persistants, en adéquation avec sa forte densité de population et une activité artisanale sur une partie du bassin versant. Pour l'Horn la dérégulation positive des systèmes de détoxification est probablement en liaison avec les usages très importants en pesticides dans la production intensive de légumes. Notons par ailleurs que les deux estuaires de Noyalo et Horn sont soumis aux rejets de stations d'épurations (STEP) localisées immédiatement en amont de ces estuaires ; la grande majorité des STEP n'est pas équipée pour retenir efficacement certains contaminants émergents, comme les composés pharmaceutiques et les produits de soins corporels qui peuvent impacter négativement le poisson, en dérégulant de nombreuses voies métaboliques au niveau du foie (Popovic et al. 2023).

Le cycle de la méthionine peut être dérégulé dans le foie des poissons soumis aux xénobiotiques (Galland et al. 2015). Nous avons montré dans notre projet une dérégulation très nette de ce métabolisme pour les poissons de Noyalo, Horn et Scorff. Sept protéines impliquées dans ce cycle (deux isoformes de la betaine homocysteine methyl-transferase (BHMT), trois isoformes de la S-adenosylmethionine synthase, adenosyl homocysteinase and methionine synthase) ont été dérégulées pour Noyalo, cinq pour l'Horn et trois pour le Scorff. Cette dérégulation du cycle de la méthionine observée dans ECOEST qui semble couplée avec

les activités de détoxification, confirme nos observations précédentes sur une contamination expérimentale du flet par des xénobiotiques (Galland et al. 2015) ; ce dernier travail mettant en évidence une dérégulation positive du cycle de la méthionine, avec un rôle majeur joué par l'homocystéine chez les poissons exposés. Dans notre projet ECOEST, la dérégulation négative de la BHMT, de deux SAM synthetases, et de l'adenosylhomocysteinase, couplée avec la dérégulation positive de la méthionine synthetase suggèrent que la synthèse de méthionine est privilégiée au dépend de la synthèse d'homocystéine ; ceci conduisant au maintien des capacités de méthylation de la cellule, notamment au niveau de l'ADN (Lee et al. 2009). Notons que les processus de méthylation sont extrêmement importants pour la cellule, jouant un rôle majeur au niveau de la relation : épigénétique - réponse aux xénobiotiques (Vandeguhutche & Janssen 2011).

On peut remarquer par ailleurs que l'estuaire du Scorff présente une certaine similitude avec les estuaires de Noyal et Horn, avec une station d'épuration immédiatement en amont de l'estuaire, la dérégulation de la phase II de la détoxification (GST) et du métabolisme de la méthionine étant aussi clairement détectée chez des saumons juvéniles soumis aux effluents de STEP en estuaires (Meador et al. 2020).

Signatures protéomiques : détoxification vis-à-vis de l'arsenic (Aven)

Certains éléments toxiques comme les métaux ou un élément trace non métallique comme l'arsenic peuvent être détectés dans les vases estuariennes et plus ou moins bioaccumulés dans le muscle du flet. Nous avons observé dans les chapitres précédents la plus forte concentration en As dans les sédiments de l'Aber Wrac'h, les autres estuaires présentant des concentrations modérées. A l'inverse, une concentration modérée a été observée dans le muscle des flets de l'Aber Wrac'h, les plus fortes teneurs en As dans le muscle étant détectées pour l'Aven, en 2018 comme en 2020.

Par la protéomique, nous n'avons pas détecté des signatures claires d'exposition des poissons vis-à-vis des métaux ou éléments traces (comme l'activation de la métallothionéine). Cependant, une protéine, l'arsenite methyltransferase a été visiblement sous-accumulée dans les poissons de Penzé-Horn-Scorff-Noyal ; cette baisse systématique indique en fait que As est bien accumulé préférentiellement dans les poissons de « l'estuaire de référence », l'Aven.

L'Arsenic est considéré comme un élément toxique, fréquemment détecté dans les environnements aquatiques, et pouvant poser des problèmes de santé public (Du et al. 2015). Dans les eaux naturelles, les deux principales formes de l'arsenic sont des formes inorganiques : l'arsenate As(V), et l'arsenite AS(III) considéré comme 60 fois plus toxique. Notons que As(V) est une forme plus biodisponible pour les organismes aquatiques et peut être ainsi métabolisé en As(III) qui peut s'accumuler dans le poisson (Du et al. 2015). Les formes méthylées de l'arsenic, monomethylarsonic acid (MMA) et dimethylarsinic acid (DMA) sont significativement moins toxiques (Francesconi, 1994 ; Nordstrom, 2002).

L'arsenite methyltransferase joue un rôle majeur dans la détoxification de l'arsenic en catalysant la biométhylation de l'arsenite As(III) vers ses métabolites moins toxiques MMA et DMA, qui seront ensuite transformés vers des molécules non toxiques avant leur élimination par le poisson (Cui et al. 2021).

La présence en arsenic dans les eaux peut être d'origine naturelle (liée à la nature du fond géochimique dans le bassin versant), ou être reliée à différentes activités anthropiques. Deux études nationales géologiques ont été menées en Bretagne (Brenot et al. 2007 ; Devau et al.

2017), dédiées à l'évaluation du risque chimique dans les eaux souterraines ; elles n'ont pas identifié de risque particulier lié à l'arsenic dans les bassins versants de l'Aber Wrac'h et de l'Aven. Nous suggérons que la contamination de ces deux hydrosystèmes par l'arsenic pourrait être liée aux rejets d'une usine localisée sur le bassin versant de l'Aber Wrac'h, et exploitant les macroalgues brunes marines (principalement *Laminaria digitata*) riches en arsenic inorganique, pour en extraire des composés utilisés dans l'alimentation, les cosmétiques et le secteur médical. Suite à cette activité industrielle, les rejets historiques d'eaux usées (Aber Wrac'h) et les boues résiduelles (post extraction) épandues dans les champs comme fertilisant sur les bassins versants de l'Aber Wrac'h et de l'Aven (sur le bassin du Ster Goz, affluent de l'Aven, en amont de Troganvel), ont pu conduire à une contamination par l'arsenic de ces hydrosystèmes. L'arsenic rejeté dans les eaux ou les boues est probablement sous la forme inorganique As(V) ou As(III) très mobile dans l'environnement, de par sa forte affinité pour la phase dissoute. Un possible différentiel de l'historique des rejets et de la forme de l'arsenic rejeté sur les deux bassins versants pourrait expliquer les résultats contrastés de la contamination en As sédiment vs poisson, entre Aber Wrac'h et Aven. Des éléments bibliographiques viennent conforter notre hypothèse, en mettant en évidence que l'exploitation des algues marines peut conduire à un transfert de l'arsenic et de différents métaux des algues vers les cultures (Greger et al. 2007), le passage vers l'hydrosystème étant ensuite assuré par le ruissellement.

Notons par ailleurs que si la contamination du flet par l'arsenic est significative dans l'estuaire de l'Aven, les concentrations des eaux brutes sur l'ensemble du bassin versant présentent des teneurs en As entre 1 et 2 µg/L (source : Quimperlé communauté), très courantes dans les eaux douces et correspondant à des concentrations naturelles ; on émet donc l'hypothèse d'une dilution très rapide dans cet hydrosystème, de la contamination diffuse par l'arsenic.

Signatures protéomiques : activation du cycle de l'urée (Horn, moins marquée pour Noyal)

Un autre métabolisme d'intérêt, le cycle de l'urée, montre de fortes différences entre les estuaires. Sept protéines impliquées dans cette voie métabolique ont été positivement dérégulées pour les flets de l'Horn : arginosuccinate lyase, carbamoyl phosphate synthetase (2 isoformes), arginosuccinate synthetase, ornithine carbamoyltransferase, et le transporteur citrulline/ornithine. Quatre de ces protéines ont été aussi identifiées dans l'estuaire de Noyal, deux dans le Scorff, et une dans la Penzé.

Le cycle de l'urée transforme l'excès systémique en azote lié à la dégradation des métabolites contenant de l'azote (protéines, acides aminés, ou ammoniac) en urée, un composé azoté qui sera éliminé (Mew et al. 2017). Ce cycle biochimique est mis en place dans le foie et implique un nombre limité de protéines pour transformer l'excès d'ammoniac en urée. Les deux premières réactions sont localisées dans la mitochondrie et impliquent la carbamoyl phosphate synthetase I et l'ornithine carbamoyltransferase qui permet la synthèse de citrulline. Les autres protéines impliquées dans le cycle de l'urée sont : l'arginosuccinate synthase, l'arginosuccinate lyase et l'arginase. Les deux premières protéines ont été positivement régulées dans l'Horn (Tfold = 2,5 et 2,3 respectivement). Parmi toutes ces protéines, seulement l'arginosuccinate lyase a été positivement régulée pour les flets de Noyal (Tfold = 1,7).

L'impact physiologique sur le poisson d'une exposition aiguë aux nitrites et nitrates peut conduire à une production de méthémoglobine (Fan et al. 1987), mais rien dans nos résultats ne permet d'entrevoir cet effet sur les flets de l'Horn. Notons que la réduction des nitrates et

nitrites en ammoniacque est un métabolisme qui n'existe pas chez les animaux ; aussi le lien entre nitrates/nitrites et le métabolisme de l'azote chez l'animal (en particulier le cycle de l'urée) est loin d'être clair.

Nous émettons l'hypothèse dans l'estuaire très eutrophisé de l'Horn et dans une moindre mesure celui de Noyalou qu'une réduction très active des nitrates est mise en œuvre par les bactéries à l'interface eau-sédiment et conduit à une surproduction d'ammonium sur le fond, comme cela a été observé dans des rivières ou estuaires particulièrement eutrophisés (Corriveau 2009; Pein et al. 2021). Cette activité bactérienne réductrice pourrait donc exposer la faune benthique estuarienne à un flux d'ammonium conséquent. Pour les poissons osseux en conditions normales, la majorité des déchets azotés est excrétée à travers la branchie sous la forme d'ammoniacque, le coût métabolique de ce type d'excrétion étant négligeable (Wood 2022). Exposés à un excès d'ammonium sur le fond, les poissons de l'Horn et probablement aussi ceux de Noyalou ne peuvent probablement plus éliminer leur ammoniacque par les branchies ; ils doivent alors transformer leur ammoniacque en urée par le cycle de l'urée au niveau du foie (un processus métaboliquement coûteux), avant son excrétion par les reins. On notera également une dérégulation du cycle de l'urée détectée chez des saumons juvéniles soumis à des flux polluants issus de stations d'épurations (Meador et al. 2020) ; cette situation étant aussi rencontrées pour les flets de Horn et Noyalou.

Signatures protéomiques : activation de la synthèse du cholestérol et dérégulation de la production d'hormones stéroïdiennes (Scorff, Noyalou)

Nous avons détecté particulièrement dans les estuaires du Scorff et de Noyalou une dérégulation positive très soutenue au niveau de la synthèse du cholestérol dans le foie. Plusieurs protéines de cette voie métabolique sont ainsi surreprésentées dans les flets de ces hydrosystèmes : hydroxyméthylglutaryl-coa synthase (avec un Tfold de 6,4 et 16 pour respectivement Scorff et Noyalou), lanosterol synthase, lanosterol 14-alpha demethylase, squalene synthase, diphosphomevalonate decarboxylase, mevalonate kinase, 7-dehydrocholesterol reductase, delta(14)-sterol reductase.

Chez le poisson, une activation de la synthèse du cholestérol a été identifiée suite à une exposition à des hydrocarbures de type PAHs (Sorhus et al. 2017, Xu et al. 2016 ; 2019). D'autres polluants organiques persistants comme les dioxines peuvent aussi conduire à une augmentation de la synthèse en cholestérol chez le poisson (Helal et al. 2022 ; Laurent et al. 2024). Une exposition du poisson zèbre (*Danio rerio*) aux hydrocarbures a conduit à une activation de la voie de synthèse du cholestérol, mais s'accompagne en plus de modifications dans les concentrations d'hormones stéroïdiennes, androgènes et oestrogènes (Price et al. 2022).

Nous devons souligner ici qu'une approche complémentaire à nos analyses en protéomique dans ECOEST a été menée par la transcriptomique, sur les mêmes échantillons de foie de flet (ie une étude de la transcription des gènes par RNAseq, qui ne sera pas détaillée dans ce rapport). Cette approche en transcriptomique nous a permis d'identifier des altérations dans l'expression de gènes impliqués dans la biotransformation de cholestérol vers des hormones stéroïdiennes pour les flets de Scorff et Noyalou ; ces dérégulations pouvant conduire à de futures perturbations hormonales, au niveau de la thyroïde et des organes sexuels.

Au final, nous émettons l'hypothèse que ce couplage entre activation de la biosynthèse du cholestérol et la dérégulation dans la production d'hormones stéroïdiennes pour les flets du

Scorff et Noyalou pourrait être potentiellement liée à l'exposition à des polluants organiques persistants (PAHs, PCBs, Dioxines,..) liées au trafic routier et aux activités industrielles.

8.2 Dérégulation de différentes voies métaboliques du flet en 2020 (Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine vs Aven)

Tableau 7. Nombre de protéines dérégulées dans le foie de flet des estuaires de Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine vs Aven

	Gouessant	Guillec	Flèche	Quillimadec	Aber Wrac'h	Douffine
Dérégulation positive	202	44	58	110	33	71
Dérégulation négative	46	45	75	61	60	39

Les flets de l'estuaire du Gouessant présentent le plus fort nombre de protéines dérégulées positivement (202) relativement aux autres hydrosystèmes, la valeur la plus faible (33) étant observée pour l'Aber Wrac'h (Tableau 7). Ce différentiel très net s'explique probablement par une pression très forte des multiples stressseurs qui s'exercent sur les flets du Gouessant. Le nombre de protéines en dérégulation négative ne permet pas de ségréger clairement les différents estuaires.

Signatures protéomiques : détoxification du flet dans tous les estuaires, moins marquée dans le Quillimadec

Concernant la détoxification de phase I, le cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) impliqué dans la détoxification hépatique des polluants organiques est accumulé de façon significative pour les flets de Douffine (Tfold = 2,29), Aber Wrac'h (Tfold = 2,59) et Guillec (Tfold = 2,65), relativement à ceux de l'Aven. Contrairement à ce qui était attendu, aucune protéine de type P450 n'a été dérégulée pour les poissons du Gouessant.

L'accumulation de CYP1A1 suggère une exposition significative aux polluants organiques pour les flets de Guillec, Aber Wrac'h et Douffine, et une exposition réduite pour ceux de Gouessant, Flèche et Quillimadec. Cependant cette hypothèse doit être considérée avec précaution, car certains composés pharmaceutiques peuvent entraîner une réduction de l'activité du CYP450 ; ce phénomène ayant été démontré pour certains fongicides comme le clotrimazole et le ketoconazole (Burkina et al. 2015 ; Zlabek & Zamaratskaia 2012). Notons par ailleurs que certaines populations de flet, en situation de contamination chimique lourde et chronique en estuaire, peuvent développer une résistance aux polluants organiques qui se traduit par une faible induction du CYP450 (Borcier et al. 2020).

Concernant la détoxification phase II, trois protéines sont dérégulées positivement pour les flets du Gouessant, une seule pour les autres estuaires, et aucune ne l'est pour l'Aber Wrac'h. Les flets du Gouessant montrent un accroissement des quantités de glutathione synthetase (Tfold = 1,96), glutathione peroxidase (Tfol = 3,19) et glutathione S-transferase theta-1 (Tfold = 2,28). La glutathione synthetase catalyse la biosynthèse du glutathion à partir de gamma-glutamyl-cysteine et de glycine. Le glutathion joue un rôle crucial dans la détoxification vis-à-vis des xénobiotiques et protège la cellule contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. La glutathione peroxidase-1 est une enzyme intracellulaire antioxydante qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau. La glutathione S-transferase theta 1 est impliquée dans

la détoxification des contaminants chimiques en conjuguant le glutathion réduit en différents composés électrophiles et hydrophobes.

La dérégulation positive des protéines de détoxification phase II pour les flets du Gouessant pourrait être liée à une détoxification vis-à-vis des fortes concentrations en pesticides observées dans les eaux douces de ce système ; cependant, cette hypothèse nous paraît très improbable, car on n'observe pas en parallèle dans le Gouessant une surrégulation de la détoxification phase I. Le Gouessant est fragmenté par deux barrages successifs localisés immédiatement en amont de l'estuaire, ce qui peut influencer fortement le devenir des pesticides et d'autres contaminants dans les eaux. En effet, le temps de résidence des polluants dans les réservoirs de ces barrages est long, particulièrement en été ; il peut conduire à une réduction forte de la concentration en pesticides entre l'amont et l'aval de ces barrages, en favorisant donc leur accumulation et leur dégradation dans les réservoirs de ces barrages (Le Cor et al. 2021 ; Caquet et al. 2013 ; Devault et al. 2009). Aussi, nous suggérons que les barrages du Gouessant réduisent les transferts en aval des pesticides vers l'estuaire, et que la dérégulation positive des protéines de la phase II est possiblement liée à la forte production de sulfure d'hydrogène (H₂S) dans la partie aval de l'estuaire et dans la Baie de St Brieuc, par les bactéries qui métabolisent les dépôts d'algues vertes sur le fond (Pucheux et al. 2011 ; Ménesguen et al. 2010) ; sachant que l'exposition des poissons au sulfure d'hydrogène conduit à une peroxydation des lipides et à des réponses antioxydantes (Liu et al. 2022 ; Sreejai & Chithra, 2016).

Une seconde hypothèse, expliquant la dérégulation uniquement de la détoxification phase II dans le Gouessant, serait aussi la présence significative de cyanobactéries détectées en été dans les réservoirs du Gouessant, produisant des microcystines (les plus communes étant les cyanotoxines), connues pour induire du stress oxydant, en favorisant la formation d'espèces réactives de l'oxygène chez les organismes aquatiques (Welten et al. 2020 ; Du et al. 2019). De plus, les microcystines surrégulent la glutathion S-transferase et la glutathion peroxidase chez les poissons exposés (Le Manach et al. 2018). Notons que les cyanobactéries ont été détectées dans le réservoir du dernier barrage sur le Gouessant avant l'estuaire (Pucheux et al. 2011), avec des concentrations pouvant dépasser 204 000 cellules /mL (le seuil du danger étant de 100 000 cellules /mL). Les cyanobactéries (*oscillatoriales*, *microcystis* et *synechococcus*) ont été aussi identifiées dans les sédiments en aval des deux barrages, lieu de capture des flets du Gouessant (Pucheux et al. 2011).

Les altérations dans le cycle de la méthionine ont souvent été associées avec l'exposition des poissons aux xénobiotiques ; la méthionine étant un acide aminé contenant du soufre essentiel dans la nutrition (Galland et al. 2015). On identifie neuf protéines de ce cycle dérégulées négativement pour les flets de la Flèche ; six étant dérégulées pour la Douffine et cinq pour le Guillec. Ces protéines illustrent tous les stades du cycle de la méthionine et incluent : deux isoformes de la betaine homocysteine methyl transferase (BHMT), trois isoformes de la S-adenosylmethionine (SAM) synthase, et quatre isoformes de l'adenosyl homocysteinase. La dérégulation négative de BHMT, SAM synthetase et adenosylhomocysteinase suggère une orientation vers la synthèse de la méthionine au dépend de l'homocystéine. Notons que dans la partie aval du bassin versant de la Flèche, deux unités de lavage de légumes déchargent leurs eaux usées dans la rivière. Une présence importante de crucifères caractérise les légumes traités dans ces unités (choux fleurs, choux, brocolis, romanesco, navets,...), sachant que cette famille peut libérer naturellement des molécules soufrées suite à la découpe : le glucosinolate et son métabolite le phenetyl

isothiocyanate (PEITC) (Castro-Torres et al. 2020 ; McNaughton & Marks 2003). Ces deux molécules sont toxiques pour les bactéries, champignons et insectes (Ali et al. 2018 ; Dufour et al. 2015). De plus, les embryons de truite (*Salmo trutta*) exposés à des concentrations environnementales de PEITC (0,1 µg/L) montrent une mortalité accrue, des malformations et un comportement anormal (White et al. 2019a). Dans ce projet ECOEST, nous émettons l'hypothèse que le lavage de plusieurs centaines de tonnes de légumes par an pourrait conduire à des rejets importants de glucosinolate-PEITC dans la rivière, qui pourraient expliquer la dérégulation du métabolisme des composés soufrés comme la méthionine pour les flets de la Flèche.

Signatures protéomiques : cycle de l'urée modérément activé pour les flets du Gouessant, Quillimadec et Douffine

Le cycle de l'urée a retenu notre attention dans l'analyse des signatures protéomiques du flet en 2018, par son lien potentiel avec une exposition du poisson avec de fortes charges en azote dans les eaux. En 2020, nous avons aussi détecté des dérégulations dans le cycle de l'urée avec quatre protéines principales : argininosuccinate lyase (ASL), arginosuccinate synthase (ASS), mitochondrial aspartate aminotransferase (ASAT) et cytoplasmic aspartate-tRNA ligase.

ASL catalysant la formation de l'arginine à partir de l'arginosuccinic acid (ASA), a été accumulée dans le Quillimadec (Tfold = 1,57) et la Douffine (Tfold = 1,5). L'arginine est ensuite décomposée en urée, excrétée dans l'urine pour réduire les composés cellulaires azotés. ASS impliquée dans la troisième étape du cycle de l'urée, synthétise l'arginosuccinate à partir de la citrulline et de l'aspartate. Les niveaux d'ASS ont été modifiés dans la flèche (Tfold = -3,80), le Quillimadec (Tfold = 2,53) et l'Aber Wrac'h (Tfold = -2,38).

Le Gouessant diffère des autres hydrosystèmes, avec une dérégulation positive pour ASAT (Tfold = 2,02). ASAT contribue à l'élimination de l'ammoniaque en produisant de l'aspartate qui rentre dans le cycle de l'urée.

De manière surprenante, on observe aucune protéine associée au cycle de l'urée dérégulée pour les flets du Guillec, malgré les fortes teneurs en azote de ses eaux. Rappelons que le cycle de l'urée est responsable de la transformation de l'ammoniaque en urée. La dégradation de métabolites riches en azote : protéines, acides aminés ou ammoniaque, conduit donc à la production d'urée qui sera excrétée. Le lien potentiel entre la dérégulation du cycle de l'urée chez le flet et un possible excès d'ammonium au niveau du sédiment déficitaire en oxygène a été évoqué sur l'Horn, un hydrosystème particulièrement eutrophisé. Malgré de fortes charges en azote dans les eaux de surface du Guillec, cet estuaire présente essentiellement des fonds sableux ; les fonds de l'Horn étant majoritairement vaseux et soumis au flux d'une station d'épuration juste en amont de l'estuaire. Nous suggérons donc que la réduction bactérienne des nitrates en ammonium à l'interface eau-sédiment dans l'estuaire du Guillec reste limitée et ne produit pas l'excès d'ammoniac nécessaire pour activer le cycle de l'urée chez le flet. Si la connexion entre l'exposition aux nitrates/nitrites des organismes aquatiques et le cycle de l'urée (ie leur métabolisme de l'azote) reste complexe, des études ont montré une dérégulation du cycle de l'urée suivant une exposition aux nitrites, chez la crevette *Penaeus* (Chen & Chen 2001).

Les flets des estuaires du Gouessant, Quillimadec et Douffine, ont tendance à réguler positivement les protéines associées au cycle de l'urée. Cette tendance peut être expliquée pour le Gouessant par des flux importants d'ammonium, nitrite et nitrate dans ses eaux de

surface, probablement liés à l'activité d'élevage très soutenue et aux larges surfaces consacrées à la production de céréales, conduisant à des marées vertes dans la Baie de St Brieuc, en aval de l'estuaire. Dans l'estuaire du Quillimadec, production légumière intensive et élevages soutenus contribuent à la dérégulation du cycle de l'urée pour les flets de cet estuaire, et conduisent aussi à des marées vertes dans la baie en aval. La Douffine présente trois piscicultures importantes dans la moitié aval de son bassin versant; elles conduisent à une eutrophisation significative de son estuaire ; les activités aquacoles générant des flux d'ammonium, nitrite et nitrate dans les hydrosystèmes (Helall et al. 2017 ; Schenone et al. 2011). Notons de plus pour la Douffine, que des concentrations en nitrates élevées sont observées dans ses affluents et contribuent donc à l'eutrophisation de cet hydrosystème.

Signatures protéomiques : réponse du flet au stress thermique dans les estuaires du Gouessant et du Quillimadec

L'analyse protéomique a révélé des altérations de plusieurs protéines associées à la réponse au stress thermique : six protéines dérégulées dans l'estuaire du Gouessant, quatre étant dérégulées dans le Quillimadec et l'Aber Wrac'h.

Les HSPs (Heat Shock Proteins) sont un groupe de protéines très conservées avec des poids moléculaires variables (de 16 à 100 kDa) trouvées dans tous les organismes, et produites en réponse aux stress cellulaires. Pour les espèces aquatiques les HSPs peuvent être impliquées dans la réponse au stress thermique et possiblement à d'autres stress. Les poissons peuvent exprimer des HSPs en cas de variations significatives positives ou négatives de la température, aussi ces signatures sont analysées pour les suivis environnementaux (Roberts et al. 2010).

Le protéome hépatique des flets de l'estuaire du Gouessant montrent ainsi une accumulation de plusieurs HSPs, notamment de deux protéines en liaison probable avec un stress thermique : 14-3-3 protein epsilon isoform X1 (Tfold = 1,93) et HSP 60 kDa (Tfold = 1,54), en association avec une protéine homologue de la Delta-1-pyrroline-5carboxylase synthase (Tfold = 2,43) qui est impliquée dans la biosynthèse de la proline. Les poissons du Quillimadec montrent une accumulation de trois HSPs : DNAJ homolog subfamily C member 3 (Tfold = 2,38), HSP 70 kDa protein 4L (Tfold = 1,51), et mitochondrial HSP 75 kDa (Tfold = 1,57).

A l'inverse, les signatures moléculaires dans les autres estuaires ont montré des baisses de niveaux pour la Stress-induced-phosphoprotein 1 dans le Guillec, Aber Wrac'h et Douffine (Tfold = -1,88 ; -1,76 ; -1,67 respectivement), comme pour la mitochondrial HSP 10 pour Flèche et Aber Wrac'h (Tfold = -1,72 et -1,63). Les flets de la Flèche ont montré de plus une réduction pour la DNAJ homolog subfamily C member (Tfold = -2,17).

Durant nos échantillonnages, la mesure de la température de l'eau n'a été faite qu'une seule fois, au début de la pêche électrique, avec une température moyenne pour l'ensemble des estuaires de 15,2 °C ; ceci ne permettant pas de connaître le régime thermique des estuaires sur l'ensemble de l'été. Le Gouessant a clairement montré le plus grand nombre de protéines associées à la réponse du poisson au stress thermique ; cet hydrosystème débouche sur une grande baie peu profonde qui favorise le réchauffement de l'eau de l'estuaire à marée montante durant les vagues de chaleur, en plus d'un effet de réchauffement très probable lié aux flux d'eau issus des barrages, en amont de cet estuaire. Les retenues d'eau en rivière peuvent ainsi altérer le régime thermique de la rivière, en aval des aménagements (Daniels & Danner 2020 ; Cai et al. 2018 ; Niemeyer et al. 2018). L'estuaire du Quillimadec a aussi montré des signes de stress thermique probablement liés à l'aménagement en amont de l'estuaire,

avec une probable stratification thermique dans le réservoir, conduisant à la production d'eau chaude dans l'estuaire.

Une autre hypothèse serait que les poissons du Guessant et du Quillimadec pourraient être exposés à d'autres stressseurs, car les HSPs peuvent être induits par des conditions stressantes variées ; l'élément déclenchant leur synthèse étant la présence de protéines dénaturées par les stressseurs au sein de la cellule. Citons par exemple le cas de la HSP 70 qui peut être activée chez le poisson, sous l'effet de certains polluants : BaP, PCBs, ammoniacque, métaux lourds (Popovic et al 2023).

Signatures protéomiques : Signatures d'hypoxie pour les flets du Guessant

Les mesures de l'oxygène dissous dans les eaux des estuaires, lors des pêches électriques de flets, ont montré des valeurs variant de 8,74 à 10,85 mg O₂ / L, bien au-dessus du seuil considéré comme critique pour les organismes benthiques : 2 mg O₂ / L (Vaquer-Sunyer & Duarte 2008). Cependant pour certains hydrosystèmes, un total de onze protéines a été observé en lien avec la réponse à l'hypoxie.

La dérégulation la plus significative a été observée pour l'Hypoxia upregulated protein 1 (HYOU1) et la Glycogen phosphorylase muscle form (PYGM). HYOU1 a montré une abondance réduite pour les flets du Guillec (Tfold = -1,62) et de la Flèche (Tfold = -2,29), mais a été accumulée pour le Quillimadec (Tfold = 1,73). Une isoforme de PYGM a été accumulée pour les flets du Guillec (Tfold = 1,54), Flèche (Tfold = 1,87) et Quillimadec (Tfold = 1,57), et une autre isoforme pour la Flèche (Tfold = 1,83).

HYOU1 joue un rôle de cytoprotection dans la réparation de la mitochondrie ; elle fait partie de la famille des HSPs et contribue au repliement des protéines et à leur sécrétion dans le réticulum endoplasmique (RE). Sous condition hypoxique, HYOU1 s'accumule dans le RE (Chene et al. 2006).

PYGM est un enzyme clé au démarrage de la glycogenolyse, apportant de l'énergie pour la contraction musculaire. Des niveaux élevés de de PYGM ont été observés pour un poisson marin sous condition hypoxique, pour assurer une fourniture en énergie rapide durant le stress hypoxique (Ding et al. 2022). De manière contrastée, la Delta-aminolevulinic acid dehydratase, un enzyme impliqué dans les premières étapes de la biosynthèse de l'hème (critique pour le transport de l'oxygène dans les organismes), a montré une abondance décroissante spécifiquement pour le Quillimadec (Tfold = -2,83).

Les flets du Guessant ont montré des dérégulations distinctes relativement aux autres hydrosystèmes. On a observé une surproduction de l'Alpha-1-antitrypsin (A1AT) homolog (Tfold = 2,04), Prohibitin-2 (Phb-2) isoform X1 (Tfold = 1,81) et de NDRG1 (Tfold = 3,41). Inversement, la L-lactate dehydrogenase A (LDHA) et la Protein-tyrosine kinase 2-beta (PTK2B) ont été sous exprimées (Tfold = -2,11 et -3,00, respectivement). A1AT protège les tissus vis-à-vis des enzymes liés aux processus inflammatoires dans la cellule. PHBs sont des protéines très conservées, trouvées dans plusieurs compartiments cellulaires (Mishra et al. 2006) et ont été identifiées dans la membrane mitochondriale interne. Les complexes de prohibitines dans la mitochondrie contrôlent la prolifération cellulaire, l'intégrité fonctionnelle de la mitochondrie (Merkwirth & Langer 2009). La protéine NDRG1 est impliquée dans l'adaptation à l'hypoxie chez *Danio rerio* (Park et al. 2022). Finalement, la LDH catalyse la conversion du pyruvate en lactate dans les processus de fermentation qui sont favorisés en conditions appauvries en oxygène (l'oxygène étant l'accepteur final de l'électron dans la respiration). Rappelons de plus

que la région régulatrice du gène de la LDH contient des sites de fixation essentiels pour HIF1, ce qui oriente sa régulation en réponse à l'hypoxie. Chez un poisson marin, la voie de signalisation de la LDHA est activée par HIF1 pour promouvoir la glycolyse anaérobie, essentielle pour faire face à la demande croissante en énergie induite par le stress hypoxique (Qin et al. 2023 ; Sun et al. 2020 ; Gong et al. 2020). En considérant nos résultats précédents sur le plus fort rapport Mn/Ca observé dans l'otolithe des flets du Gouessant, suggérant un hypoxie chronique, les marqueurs protéomiques dérégulés dans les flets de cet estuaire sont très probablement en relation avec ce stress chronique. Notons que la prolifération d'algues vertes et leur dépôt sur le fond dans la baie, en aval de l'estuaire du Gouessant, pourrait être à l'origine ou contribuer au phénomène hypoxique observé dans cet estuaire, particulièrement à marée montante.

Signatures protéomiques : Activation générale de l'oxydation des acides gras dans tous les estuaires (mieux marquée en Flèche et Douffine)

On retrouve de nombreuses protéines impliquées dans la bêta-oxydation des acides gras, positivement dérégulées dans tous les estuaires vs l'Aven. On identifie ainsi plusieurs isoformes de l'acyl-CoA synthetase, acyl-CoA et hydroxyacyl-CoA dehydrogenases, betaketothiolas, 2,4 dienoyl-CoA reductase, impliquées dans la dégradation des acides gras insaturés.

L'accumulation de ces protéines suggère que ce métabolisme est fortement stimulé pour la Flèche et la Douffine (cinq protéines accumulées, avec des Tfold variant de 1,52 à 3), mais aussi pour l'Aber Wrac'h (quatre protéines), Guillec et Gouessant (trois protéines). Une seule protéine accumulée de cette catégorie a été observée pour le Quillimadec. Rappelons que la bêta-oxydation des acides gras constitue le métabolisme énergétique le plus efficace chez l'animal, et sa stimulation dans le foie des flets correspond à une réponse du poisson par rapport à une demande énergétique accrue qui peut être liée aux multiples stress de l'environnement ; cette demande en énergie étant particulièrement marquée pour la Flèche et la Douffine.

Signatures protéomiques : dérégulation du système immunitaire particulièrement marquée pour les flets du Gouessant

De dérégulations significatives de nombreuses protéines associées au système immunitaire ont été détectées sur le flet, particulièrement au niveau du système du complément regroupant une série d'enzymes impliqués dans la défense immunitaire. Le système du complément sert de pont entre l'immunité innée et acquise, en facilitant les réponses des anticorps, la mémoire immunitaire, la lyse des cellules étrangères, et l'élimination des complexes antigène-anticorps et des cellules en apoptose (Lubbers et al. 2017).

Les flets du Guillec ont présenté le plus faible nombre de protéines dérégulées liées au complément, deux protéines dérégulées positivement et quatre protéines dérégulées négativement. Les flets du Quillimadec et de la Douffine ont montré onze protéines dérégulées, alors que ceux de la Flèche et de l'Aber Wrac'h ont présenté douze protéines dérégulées. Le plus fort nombre de protéines associées au complément et dérégulées a été clairement détecté pour les flets du Gouessant, avec douze protéines dérégulées positivement et trois dérégulées négativement.

On a relevé de plus pour le Gouessant la surexpression de protéines liées à une infection par Salmonella, exclusivement dans cet estuaire. La dérégulation de cette voie métabolique

reflète le développement d'une réponse immunitaire spécifique aux flets du Gouessant. Notons que la dérégulation du système immunitaire pour les poissons du Gouessant pourrait aussi être liée à la présence d'H₂S dans l'estuaire et dans la Baie de St Brieuc en aval (Pucheux et al. 2011 ; Ménesguen et al. 2010). Plusieurs études ont en effet mis en évidence la dérégulation de gènes liés à la réponse immunitaire, suivant une exposition à H₂S (Lazado et al. 2024 ; Leeuwis & Gamperl 2022).

Parmi les nombreuses protéines dérégulées, Complement C3 et Complement factor B ont montré conjointement une dérégulation négative dans les flets du Guillec (Tfold = -1,81 ; -1,56), Aber Wrac'h (Tfold = -2,00 ; -1,92) et Douffine (Tfold = -1,61 ; -1,56). Ces deux dernières protéines n'ont pas été significativement dérégulées pour les flets du Gouessant, Flèche et Quillimadec. Alors que le Complement factor 3 est une des protéines les plus abondantes dans le sérum et joue un rôle vital dans l'activation du complément, le Complement factor B représente une voie métabolique alternative du complément, en contribuant à son activation en réponse à une infection bactérienne (Laskowski & Thurman 2018 ; Sunyer et al. 1997 ; Li & Sun 2017). L'absence de dérégulation de ces deux protéines du complément dans les flets de Guillec, Aber Wrac'h et Douffine, relativement à ceux de l'Aven, suggère une réponse immunitaire limitée dans ces trois systèmes.

Au final, l'analyse protéomique sur le foie de flets a révélé la dérégulation de plusieurs protéines associées avec une réponse inflammatoire : Cathepsin B-like, Leukotriene A-4 hydrolase, Plasma alpha-L-fucosidase, ainsi qu'à des protéines liées à l'activation du lymphocyte : Dipeptidyl peptidase 1 et biased Plastin-2.

9. Typologie des hydrosystèmes ECOEST revisitée avec les apports de la protéomique sur le flet

Mise à jour de la typologie des hydrosystèmes : Penzé, Horn, Aven, Scorff et Noyal, en intégrant les résultats de la protéomique sur le flet (échantillonnage 2018)

Nos analyses précédentes prenant en compte les différentes variables (géographiques, hydrobiologiques, chimiques, biologiques sur le flet) vont être ici intégrées avec les résultats de la protéomique sur le flet, pour affiner la typologie des cinq hydrosystèmes ECOEST : Penzé, Horn, Aven, Scorff et Noyal.

Parmi ces hydrosystèmes, l'Aven a montré la plus forte densité de haies (un marqueur du bon état général de son bocage), une pression agricole modérée orientée sur la production de petits légumes, une teneur réduite en pesticides et en azote dans ses eaux de surface, un risque hypoxique nul. Par ailleurs les flets de ce système présentent une contamination très faible par les PCBs, mais un niveau significatif de contamination par l'arsenic. Globalement l'Aven paraît donc l'hydrosystème le moins impacté par les multiples stressseurs environnementaux. La protéomique sur le foie du flet a révélé très peu de dérégulations spécifiques à l'Aven, mis à part une accumulation d'arsenate méthyltransferase pour se détoxifier vis-à-vis de l'arsenic, confirmant ainsi son statut de « système témoin ».

L'Horn est caractérisé par une pression agricole très forte associée à la production intensive de légumes (choux fleurs, patates, carottes, échalotes,...). Son bassin versant

a montré des charges importantes en pesticides et en nitrates dans ses eaux. Une partie conséquente de ce bassin est aussi dédiée à l'élevage (notamment la production de porcs hors sol), sans oublier la production végétale hors sol. Ce type de production agricole et d'élevage conduit généralement à un usage massif des pesticides et à des gros rejets en azote (Coulter et al. 2004 ; Crisan 2020 ; Pujol 2015 ; Sebilo et al. 2013). Les réponses protéomiques du flet se traduisent alors par une activité de détoxification soutenue probablement induite par le flux important de pesticides, mais aussi par les rejets d'une station d'épuration (STEP) située juste en amont de l'estuaire. Notons aussi dans cet hydrosystème une forte dérégulation du cycle de l'urée du flet, probablement liée à la très forte charge en azote des eaux de surface et aux effluents de la STEP. On observe par ailleurs une rectification sévère qui a été conduite dans la partie aval de la rivière Horn, qui se traduit par une capacité probablement très réduite de cet hydrosystème à s'autoépurer, particulièrement dans sa partie basse.

La Penzé partage des pratiques agricoles avec l'Horn, mais les niveaux de production légumière et élevage hors sol sont nettement plus faibles. Par ailleurs, cet hydrosystème diffère largement de l'Horn, par une plus faible contamination par les pesticides et une charge en nitrate nettement plus réduite, dans ses eaux de surface. On y observe notamment une meilleure conservation de ses surfaces naturelles (proportion plus élevée de ripisylve et d'espaces naturels) influençant le devenir des épandages dans les champs avant qu'ils ne rejoignent les eaux de surface (Reichenberger et al 2007), en limitant les flux de nutriments (Viaud & Thomas, 2019), de nitrates (Grimaldi et al. 2017), ainsi que de pesticides et de phosphore (Carluer et al. 2017 ; Catalogne & Hénaff, 2016). On détecte par ailleurs en Penzé une contamination significative des sédiments estuariens par As, Cd et Zn qui pourrait être en lien avec les activités des carrières sur son bassin versant ; la contamination significative du flet par le Cd pourrait refléter les pratiques agricoles. Cependant, cette contamination par les métaux en Penzé, et l'indice de condition faible caractérisant les flets ne se traduisent pas par des réponses protéomiques spécifiques du poisson dans cet hydrosystème.

Le bassin versant du Scorff présente une proportion en espaces naturels relativement élevée, et des teneurs en azote réduites dans ses eaux de surface. La concentration en PAHs est significative dans les sédiments estuariens de cet hydrosystème. De plus, on observe pour le Scorff des concentrations qui semblent significatives pour des métaux particuliers (Cd et Zn dans les sédiments ; Cd dans le flet). Il est probable que cette contamination chimique organique et métallique soit peu liée aux activités agricoles sur son bassin versant, mais nettement plus en lien avec le trafic routier et les activités anthropiques en bordure d'un estuaire industriel (de los Rios et al. 2016 ; Greenfield et al. 2011). On note ainsi au niveau de l'estuaire du Scorff : un trafic routier intense liée à la RN165, une ancienne carrière (Kerdual) reconvertie en décharge publique puis enfouie, une ancienne poudrière, une activité portuaire soutenue avec un chantier naval, qui peuvent être la source de cette contamination. Nous suggérons que ce sont des polluants organiques liés au trafic routier et aux activités industrielles qui expliquent probablement la réponse protéomique du flet dans l'estuaire, soit une activation de la synthèse du cholestérol et une dérégulation de la production d'hormones stéroïdiennes. Notons par ailleurs une signature d'hypoxie chronique détectée par le dosage du manganèse dans l'otolithe du flet, en amont de l'estuaire du Scorff, qui pourrait être liée aux effluents d'une laiterie localisée à Pont Scorff.

Le bassin versant de Noyal est le système le plus urbanisé du projet ECOEST et montre une forte densité de population, une activité artisanale dans sa partie aval et une proportion élevée de surface artificialisée. On observe en conséquence une contamination métallique significative, en Cu dans les sédiments estuariens, et en Cu et Zn dans le flet. La pression touristique très élevée en été dans ce bassin peut conduire à un dysfonctionnement de la station d'épuration, en amont de son estuaire (Terrier et al. 2005). Cet hydrosystème est considéré comme fortement stressé par une eutrophisation très soutenue, conduisant à une hypoxie chronique dans son estuaire ; la forte charge en matières azotées de ses eaux conduit à une réponse moléculaire du flet sous la forme d'une activation du cycle de l'urée. Les signatures protéomiques du flet mettent aussi en évidence une activation de la détoxification et de la synthèse du cholestérol, ainsi que la dérégulation de la production d'hormones stéroïdienne ; des dérégulations probablement induites par les polluants organiques liés au trafic routier et aux rejets industriels.

Mise à jour de la typologie des hydrosystèmes : Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven (échantillonnage 2020)

Pour cette année d'échantillonnage 2020, nous allons aussi prendre en compte les différentes variables (géographiques, hydrobiologiques, chimiques, biologiques sur le flet) qui vont être intégrées avec les résultats de la protéomique sur le flet, pour affiner la typologie des sept hydrosystèmes ECOEST : Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven.

L'Aven apparaît encore en 2020 comme l'hydrosystème le moins affecté par les multiples stressseurs de l'environnement. On remarque dans l'Aven de faibles teneurs en éléments traces dans le muscle du flet, avec une exception pour une signature significative et stable de l'arsenic, potentiellement liée à l'épandage sur le bassin versant de boues (résidus d'extractions sur macro-algues). On n'observe cependant pas d'induction chez le flet de l'arsenate méthyltransferase en 2020, comme détecté en 2018. On note dans cet hydrosystème, un bon état général du bassin versant et une pression agricole modérée conduisant à de faibles teneurs en azote et en pesticides dans les eaux de surface. Par ailleurs, la contamination possible par des contaminants métalliques ou organiques d'origine industrielle est fortement improbable dans l'hydrosystème de l'Aven, le risque hypoxique dans l'estuaire étant nul. Nous considérons donc qu'en 2020, l'Aven confirme son statut « d'estuaire de référence » relativement aux autres hydrosystèmes du projet ECOEST.

Le Gouessant apparaît par contre clairement comme le système le plus fortement anthropisé et stressé. Rappelons que cet hydrosystème est caractérisé par une pression de l'agriculture très forte (densité de haies faible dans le bassin versant & productions de céréales et élevages hors sol très soutenues) qui se traduit par des flux importants de pesticides, nitrites et nitrates, particulièrement dans sa partie eau douce. Par ailleurs nous suggérons qu'une faible concentration en pesticides dans les eaux est très probable dans sa partie estuarienne, les deux barrages réduisant le transfert en aval des pesticides et favorisant leur dégradation au niveau des réservoirs. Aussi, l'activation de la détoxification phase II détectée par la protéomique chez le flet du Gouessant, est en relation probable avec un stress oxydatif dans l'estuaire induit par : (1) la production

de H₂S par les bactéries métabolisant des dépôts d'algues vertes à l'embouchure de l'estuaire, et (2) une exposition chronique probable aux cyanotoxines générées dans les réservoirs eutrophisés des barrages, et transférées à l'estuaire. Notons que l'activité antioxydante peut notamment aider le poisson à restaurer son fonctionnement hépatique, après une contamination aux cyanotoxines (Paulino et al. 2020 ; Falfushynska et al. 2023).

De plus la protéomique sur le flet de l'estuaire du Guessant a mis en évidence une induction chez ce poisson du cycle de l'urée induite par la surcharge en azote, un risque hypoxique et enfin un stress thermique. Enfin la dérégulation massive de protéines en liens avec le système immunitaire dans le flet du Guessant, une probable conséquence du multistress, pourrait conduire à des désordres immunologiques sévères.

Les quatre bassins versants adjacents (Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h) nous paraissent en première approche relativement proches, avec un pression agricole soutenue liée à la culture de légumes, de céréales et à la production animale, et avec des intrants probablement importants en azote et en pesticides. Au final nous avons été capables de différencier clairement ces hydrosystèmes, en grande partie par l'approche en protéomique sur le flet.

Le bassin versant du Guillec est principalement caractérisé par une production légumière intensive, et les plus hauts niveaux en termes de fréquence de traitements phytosanitaires et de concentrations en pesticides dans ses eaux de surface, relativement aux autres bassins. Une partie conséquente de ce bassin est aussi dédiée à l'élevage (notamment la production de porcs hors sol), sans oublier la production végétale hors sol. Les réponses protéomiques du flet aux stressseurs dans le Guillec ont été principalement caractérisées par une activité de détoxification vis-à-vis des polluants organiques (dérégulation du cytochrome P450 1A1 et d'autres protéines liées au cycle de la méthionine) ; cette dérégulation étant probablement liée à l'usage massif des pesticides sur l'ensemble du bassin versant. Notons que la partie aval peu rectifiée de la rivière Guillec, donne probablement à cet hydrosystème une capacité d'autoépuration non négligeable, conduisant à des eaux estuariennes de meilleure qualité relativement à l'Horn.

Les activités agricoles dans le bassin de la Flèche sont aussi basées sur la production légumière, mais montrent également une forte activité en production animale. Les principaux pesticides identifiés dans les eaux de surface sont identiques entre Flèche et Guillec, avec cependant une concentration en pesticides totaux réduite par trois en Flèche vs Guillec. La réponse moléculaire majeure du poisson en Flèche a montré une forte dérégulation du cycle de la méthionine, sans dérégulation apparente au niveau de la détoxification des phases I et II. Aussi, nous suggérons que cette altération du cycle de la méthionine pourrait être associée à l'exposition du poisson aux pesticides, mais potentiellement aussi à des eaux usées rejetées par des unités de lavage de légumes pouvant conduire à un flux significatif en glucosynolate - phenetyl isothiocyanate dans la partie aval de la rivière ; ces deux molécules soufrées étant relarguées naturellement par les crucifères. De plus, nous avons observé dans la Flèche, une stimulation de l'oxydation des acides gras chez le flet, un moyen de produire de l'énergie pour répondre aux stress dans cet hydrosystème. L'indice de condition faible du flet dans la Flèche confirme la difficulté du poisson à maintenir ses réserves corporelles, dans un

environnement qui pourrait présenter une disponibilité en nourriture réduite pour le poisson. Cet hydrosystème, manifestement stressé, conduit le flet à maintenir un taux d'activité métabolique élevé.

Dans le bassin versant du Quillimadec, la concentration de pesticides dans les eaux de surface est apparue significativement plus faible, relativement aux valeurs observés dans les hydrosystèmes précédents (Gouessant, Guillec, Flèche). Nous avons ainsi observé dans l'estuaire du Quillimadec, par la protéomique sur le flet, une activité de détoxification limitée, mais une activation significative du cycle de l'urée probablement induite par un flux d'azote soutenu lié aux activités agricoles et à une assez forte densité de population sur le bassin versant. La réponse du flet au stress thermique dans cet hydrosystème est probablement en lien avec le réchauffement de la retenue d'eau (l'étang du Pont) en amont de l'estuaire ; des lâchers d'eau conduits en 2020 pourraient expliquer ce stress thermique en aval de la retenue. Notons que cette retenue a été supprimée en 2022 ; une action ayant permis une restauration de la continuité écologique de cette rivière.

L'hydrosystème de l'Aber Wrac'h apparaît comme le moins impacté par les multiples stressseurs, si l'on considère les quatre bassins versants adjacents à dominante agricole (Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h). On note cependant une contamination significative des sédiments estuariens par l'arsenic. L'approche en protéomique met en évidence une activité de détoxification modérée du flet vis-à-vis des polluants organiques dans l'estuaire de l'Aber Wrac'h.

La Douffine se démarque des autres hydrosystèmes par : (1) sa multicontamination métallique, reliée principalement à des activités minières passées sur le bassin de l'Aulne, et (2) une très forte production piscicole dans la partie aval de son bassin versant. Les activités agricoles sont relativement modérées sur ce bassin qui présente les plus faibles concentrations en pesticides dans ses eaux de surface, mais des concentrations en nitrates qui peuvent être conséquentes dans ses affluents. De possibles effluents d'origine industrielle et les rejets domestiques associés à l'agglomération de Pont de Buis conduisent à une activation de la détoxification (phase I) du flet, vis-à-vis des polluants organiques. Une hypoxie chronique a été détectée dans l'estuaire de la Douffine, par une signature élevée en manganèse dans l'otolithe du flet. Aussi, l'absence de réponse moléculaire du flet à l'hypoxie dans cet estuaire est probablement reliée à une normoxie dans ce système, sur une période de un à deux jours ayant précédé la capture du poisson. La protéomique sur le flet de Douffine permet aussi d'identifier : (1) une activation du cycle de l'urée en réponse au flux important d'azote issu de ses affluents et des piscicultures, et (2) une stimulation de l'oxydation des acides gras, en lien probable avec les rejets des installations aquacoles qui impactent le métabolisme lipidique des poissons sauvages (White et al. 2019b).

Conclusions sur la typologie des hydrosystèmes ECOEST

L'évaluation de l'état de santé des hydrosystèmes et particulièrement des estuaires demeure un exercice difficile dans le domaine de l'écologie du stress. Dans ECOEST, nous avons pu comparer onze hydrosystèmes en Région Bretagne, en intégrant des données sur la géographie des bassins versants, la chimie des eaux et des sédiments, et de nombreux

aspects de la biologie d'un poisson estuarien à l'état juvénile (le flet), en incluant une approche en protéomique sur le foie de ce poisson.

Notons que les données ont été collectées et analysées à différentes échelles spatiales et temporelles. La géographie nous donne une vision globale à échelle large, qui est essentiellement basée sur les usages des sols à longs termes. De manière contrastée, les réponses moléculaires du flet analysées par la protéomique, nous donnent un instantané sur le métabolisme complet du foie du poisson, essentiellement influencé par des modifications à courts ou moyens termes de l'environnement estuarien.

Les différentes approches présentées dans ECOEST sont complémentaires et nous ont permis d'établir une typologie précise de l'anthropisation dans différents bassins versants. Les analyses en protéomique sur le flet nous conduisent à une amélioration très significative de notre diagnostic sur les principaux stressseurs, et sur l'état de santé des hydrosystèmes bretons.

10. Potentiel de l'analyse des acides gras du muscle de flet, pour évaluer l'état de santé des hydrosystèmes

10.1 Introduction sur les acides gras : structure, fonction, origine, marqueurs du régime alimentaire et de la réponse aux stress

Les lipides sont des molécules clés transférées dans les hydrosystèmes, à travers toute la chaîne alimentaire jusqu'aux poissons ; ils jouent un rôle essentiel dans le cycle de vie et la physiologie des poissons (Parrish 2013). Les acides gras qui constituent les principales composantes des lipides, peuvent être localisés dans les réserves (lipides neutres) ou dans les membranes cellulaires (lipides polaires). Le stockage des lipides de réserve est très variable selon les espèces de poissons, dans notamment le foie, le muscle ou les tissus adipeux (Weil et al. 2013). Les lipides membranaires (principalement des phospholipides) sont les composantes principales des membranes cellulaires, et jouent en conséquence un rôle majeur dans les réponses biochimiques et physiologiques du poisson aux variations de son environnement (Filimonova et al. 2016).

Nous rappellerons brièvement ici la nomenclature utilisée pour définir la structure d'un acide gras :

C:Xn-Y

C définit le nombre d'atomes de carbone constituant la molécule

X correspond au nombre de doubles liaisons (ou d'insaturations) entre les atomes de carbone

Y correspond à la position du premier carbone portant la première insaturation, en partant du CH₃ terminal de la chaîne carbonée qui constitue l'acide gras.

On parle d'**acides gras polyinsaturés (PUFA** en anglais : poly unsaturated fatty acids) qui présentent plusieurs doubles liaisons (de 2 à 6). Notons qu'à partir de 4 liaisons, on parle d'**acides gras fortement insaturés (HUFA** en anglais : highly unsaturated fatty acids).

On parle aussi d'**acides gras monoinsaturés (MUFA** en anglais : mono unsaturated fatty acids) qui présentent donc une seule double liaison.

Les organismes vivants sont capables de synthétiser des acides gras saturés comme l'acide palmitique (16:0) et l'acide stéarique (18:0) ; les acides gras saturés étant la base pour la biosynthèse des MUFA comme : 16:1n7, 18:1n7, 20:1n7 ou 24:1n-9 et de certains PUFA. Notons que dans les chaînes alimentaires aquatiques, les PUFA sont principalement produits par le phytoplancton, puis transférés vers les plus hauts niveaux, et accumulés chez les poissons (Saito & Aono 2014 ; Gonçalves et al. 2012).

Chez les poissons, des HUFA comme l'acide eicosapentaénoïque (20:5n-3, EPA), l'acide docosahexaénoïque (22:6n-3, DHA) et l'acide arachidonique (20:4n-6, AA) sont considérés comme essentiels, en jouant un rôle clef dans l'état de santé et la physiologie de l'organisme (Saito & Aono, 2014). Par exemple, l'EPA est une excellente source d'énergie; il peut réguler le processus d'inflammation et les réponses immunitaires (Calder 2020). DHA est principalement synthétisé à partir de EPA à travers un processus enzymatique multi-étapes ; il est impliqué dans la structure et les fonctions de la membrane cellulaire (Sherrat et al. 2021), particulièrement au niveau des tissus nerveux où il supporte le développement cognitif et réduit les maladies neurodégénératives (Ghasemi Fard et al. 2019 ; Swanson et al. 2012). AA est quant à lui impliqué dans la croissance et la survie des stades larvaires, en orientant la signalisation cellulaire et les processus de développement (Bessonart et al. 1999). Les trois molécules précédentes ne peuvent pas être synthétisées *de novo*, ou pas en quantité suffisante par le poisson.

La composition des poissons en PUFA est ainsi largement déterminée par la qualité de leur régime alimentaire (Arts & Kohler 2009). Les algues et le phytoplancton de type diatomée sont riches en DHA, EPA et AA, et sont ainsi considérés comme une source de nourriture de bonne qualité pour les consommateurs primaires (zooplancton, invertébrés), améliorant l'efficacité du transfert énergétique pour les consommateurs secondaires au sommet de l'échelle trophique, les poissons (Lau et al. 2012 ; Müller-Navarra et al. 2004). A l'inverse, la matière organique d'origine terrestre et les cyanobactéries manquent généralement de PUFA et sont considérées comme une source de nourriture de qualité réduite (Müller-Navarra et al. 2004). Au final, la composition en acides gras du poisson est considérée comme un bon indicateur de la physiologie et de la nutrition du poisson (De Carvalho & Caramujo 2018).

D'autres travaux ont montré que l'exposition à certains polluants peut impacter le métabolisme des lipides des organismes (Bennett et al. 2021 ; Bernier-Graveline et al. 2021). Ainsi, les profils en acides gras peuvent être altérés suite à l'exposition des mammifères marins aux organohalogénés (Xie et al. 2023 ; Zhang et al. 2022), des espèces d'eau douce aux PCBs (Huang et al. 2022), des poissons aux pesticides (Gonçalves et al. 2021 ; Zang et al. 2019 ; Filimonona et al. 2016). Les acides gras apparaissent donc comme étant des bioindicateurs pertinents non seulement pour étudier l'état nutritionnel et physiologique du poisson, mais aussi pour explorer l'état de santé des écosystèmes aquatiques et les réponses du poisson aux stressseurs (Liu et al. 2023 ; Bernier-Graveline et al. 2021 ; Gonçalves et al. 2021 ; 2016 ; Ramirez et al. 2013 ; Sanchez-Muros et al. 2013 ; Maazouzi et al. 2007).

10.2 Exploration sur les profils en acides gras sur le flet (Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven)

Nous avons exploré la pertinence des lipides et des acides gras comme indicateurs de l'état écologique des estuaires, en comparant ces signatures dans le muscle du flet, pour les sept estuaires échantillonnés en 2020 (Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven).

Composition en lipides dans le muscle du flet

Tableau 8. Dosages des lipides dans le muscle de flet (Gouessant, Guillec, Flèche, Quillimadec, Aber Wrac'h, Douffine, Aven).

Estuaires	Gouessant	Guillec	Flèche	Quillimadec	Aber Wrac'h	Douffine	Aven
Lipides totaux ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\text{w.w.}$)	12.78 \pm 2.14 ^(ab)	14.05 \pm 1.27 ^(a)	11.28 \pm 0.95 ^(b)	12.68 \pm 2.36 ^(bc)	12.01 \pm 1.39 ^(bc)	14.65 \pm 5.03 ^(ac)	12.22 \pm 0.94 ^(bc)
Lipides de réserve ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\text{w.w.}$)	1.55 \pm 1.03 ^(ac)	1.97 \pm 1.13 ^(ab)	1.62 \pm 0.67 ^(ab)	1.91 \pm 2.06 ^(ac)	0.97 \pm 0.34 ^(bc)	3.85 \pm 4.56 ^(a)	1.00 \pm 0.5 ^(c)
Lipides membranaires ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\text{w.w.}$)	11.23 \pm 1.39 ^(ac)	12.08 \pm 0.47 ^(a)	9.66 \pm 0.57 ^(b)	10.77 \pm 0.53 ^(c)	11.04 \pm 1.13 ^(ac)	10.80 \pm 0.9 ^(c)	11.22 \pm 0.63 ^(c)
Triglycérides / Stérols	1.98 \pm 1.56 ^(abc)	2.62 \pm 1.84 ^(a)	2.53 \pm 1.26 ^(ac)	2.83 \pm 3.2 ^(abc)	1.23 \pm 0.82 ^(b)	5.6 \pm 6.8 ^(a)	1.18 \pm 0.71 ^(c)

On remarque que ce sont surtout les lipides de réserves dans le muscle du flet qui différencient clairement la Douffine (3,85 μg / mg de muscle en poids humide), des autres estuaires (0,97 < lipides de réserve < 1,97 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ de muscle) (Tableau 8). Un indice de réserve lipidique a été aussi calculé par le ratio de deux familles de lipides TG/FS = Triglycérides / Stérols, les triglycérides étant des lipides de réserve et les stérols des lipides membranaires. Notons que cet indice TG/FS est communément utilisé en écologie du poisson (Kerambrun et al. 2013), et qu'il est aussi clairement le plus élevé pour la Douffine (Tableau 8). Cette tendance pourrait être liée à la très forte activité aquacole dans la Douffine, conduisant à une forte eutrophisation et à des aliments riches en lipides pour les poissons sauvages dans cet hydrosystème (Pickova & Morkore 2007). Aussi nous suggérons que la forte charge en lipides du flet en Douffine pourrait être liée à un excès de nourriture disponible, conduisant à un déséquilibre entre l'énergie acquise et l'énergie dépensée par le poisson.

Les autres estuaires ont montré des différences relativement faibles dans leurs teneurs en lipides, qui pourraient être expliquées par la variabilité de l'abondance et de la diversité des proies dans l'environnement. Notons que les flets de l'Aber Wrac'h et de l'Aven présentent les plus faibles valeurs en termes de lipides de réserve et d'indice TG/ST, ce qui pourrait être un signal d'eutrophisation peu marquée dans ces deux hydrosystèmes.

D'un autre côté, les PUFA, comme le DPA (22:5n-3) abondant dans l'Aven (Fig.19), reflètent probablement l'origine marine des proies du flet dans cet estuaire (Zavorka et al. 2021). Les poissons de l'Aven sont aussi enrichis en n-3 et n-6 PUFA, comme le DHA (22:6n-3), et le DTA (22:4n-6). Le niveau de HUFA comme le DHA est réduit dans les environnements fortement eutrophisés (Taipale et al. 2016) et fort dans les systèmes oligotrophes, confirmant l'eutrophisation limitée dans l'estuaire de l'Aven. Notons que la distribution des acides gras paraît assez proche dans l'Aber Wrac'h et le Quillimadec relativement à l'Aven, indiquant aussi une eutrophisation modérée dans ces deux estuaires.

L'ACP, sur un axe vertical, sépare les poissons de Guessant et Flèche, ceux du Guillec étant localisés en position intermédiaire (Fig.19). On observe que le Guessant présente une abondance en acide arachidonique AA (20:4n-6), cet acide gras et ses métabolites jouant un rôle majeur dans le fonctionnement du système immunitaire et la réponse inflammatoire (Hanna & Hafez 2018 ; Denisenko et al. 2015). Les poissons du Guessant montrent aussi une forte proportion d'acides gras ramifiés (« branched » en anglais), communément utilisés pour évaluer la contribution bactérienne dans un environnement marin (Prato et al. 2010 ; Alfaro et al. 2006). Rappelons que deux gros barrages successifs fragmentent la rivière du Guessant dans sa partie aval ; ceci favorisant l'eutrophisation, l'accroissement de la température de l'eau et une probable prolifération de cyanobactéries dans les réservoirs de ces barrages. Ces conditions particulières pourraient expliquer cette signature d'acide gras spécifique dans l'estuaire du Guessant.

Les poissons de Flèche et du Guillec montrent un niveau élevé de DMA (diméthyl acétal) et d'EPA (20:5n-3), mais un niveau réduit de DHA (Fig. 19) qui pourrait impacter l'état et la fonctionnalité des membranes cellulaires (Costanza 1992 ; Saito & Aono 2014). De plus, la forte proportion de DMA pour Flèche et Guillec pourrait être liée aux effets de l'eutrophisation et de l'hypoxie dans ces estuaires ; les plasmalogènes à l'origine de la production en DMA jouant un rôle protecteur durant les stress oxydatifs et hypoxiques et apportent une certaine résistance au stress (Nagan & Zoeller, 2001). Les poissons de Flèche et Guillec montrent aussi un niveau élevé de l'acide vaccénique (18:1n-7) mesuré pour évaluer la contribution bactérienne dans le réseau trophique marin (Meziane & Tsuchiya 2000 ; Kharlamenko et al. 2001 ; Alfaro et al. 2006). Aussi, une production animale très active notamment en porcs élevés hors sol, en Flèche et Guillec, pourrait conduire à une prolifération bactérienne dans ces estuaires.

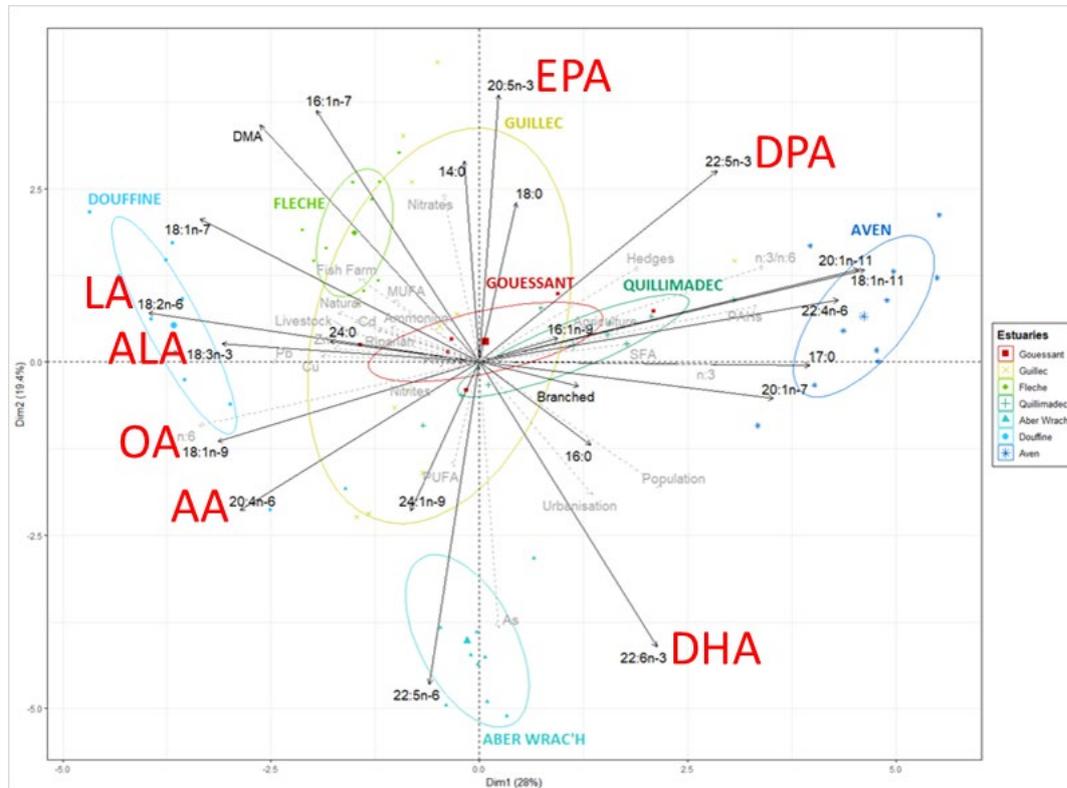
L'analyse des acides gras sur les lipides totaux (de réserve et membranaires) a mis en évidence le rôle de variables environnementales majeures sur les profils en acides gras dans le muscle des flets juvéniles. Nous nous proposons maintenant d'approfondir cette analyse en séparant les deux classes d'acides gras, ceux issus des lipides de réserve vs ceux issus des lipides membranaires.

Les flets du Gouessant montrent une faible proportion de DHA et DPA dans leurs acides gras (Fig.20). Nous suggérons que cet hydrosystème caractérisé par des réservoirs de barrage eutrophisés favorise la prolifération de cyanobactéries et/ou d'algues vertes qui ne peuvent pas produire des HUFA (Strandberg et al. 2015 ; Guedes et al. 2011).

L'axe horizontal de l'ACP (Fig.20) pourrait représenter un gradient de qualité (comme pour les acides gras issus des lipides totaux : Fig.19) avec à gauche les flets de Douffine montrant une forte proportion de OA, LA, ALA, caractéristiques d'une source de nourriture d'origine terrestre (White et al. 2019b). Les acides gras des lipides de réserve reflètent le régime alimentaire du poisson, aussi il apparaît que les aliments distribués pour les poissons d'élevage en pisciculture ont contaminé la chaîne trophique entière de l'estuaire de Douffine ; rappelons qu'une activité piscicole soutenue dans cette rivière produit environ 900 Tonnes de truites / an. Notons que ces mêmes acides gras sont également observés en fortes proportions chez les poissons sauvages vivant autour des dispositifs aquacoles, suggérant donc une ingestion d'aliments dérivés de l'aquaculture (Johnson et al. 2018). Les trois acides gras OA, LA et ALA paraissent donc des indicateurs fiables des activités aquacoles sur les signatures en acides gras du poisson, dans les lipides totaux comme dans les lipides de réserve. Par ailleurs, les flets de Douffine présentent une déficience en DHA, une autre caractéristique de l'impact des piscicultures en eau douce (Fernandez-Jover et al. 2011). Deux acides gras paraissent de plus bien marqués en Douffine, l'acide myristique (14:0) et l'acide margarique (17:0) ; ils témoignent d'une présence bactérienne significative dans l'hydrosystème (Prato et al. 2010 ; Virtue et al. 2000). Notons que l'aquaculture intensive en expansion récente produit des flux de déchets qui peuvent conduire à une eutrophisation et à une prolifération bactérienne dans certains hydrosystèmes (Amirkolaie 2011 ; Talbot & Hole, 1994).

On observe aussi la présence marquée des trois acides gras (OA, LA, ALA) dans les lipides de réserve des flets de Guillec et Flèche (Fig.20). Notons que le Guillec présente aussi une activité piscicole avec une production d'environ 450 Tonnes de truites / an, moins soutenue que celle de la Douffine, mais qui explique probablement aussi l'abondance de ces trois acides gras. La Flèche supporte par ailleurs une activité piscicole très réduite (20 Tonnes de truites / an) ; l'abondance de OA, LA et ALA dans cet hydrosystème pourrait être liée à la composition des proies du flet présentant des signatures lipidiques d'origine terrestre, comme les chironomes (Mendes et al. 2014), les gammares (Vinagre et al. 2008) et les copépodes harpacticoïdes (Aarnio 2000).

Lipides membranaires : composition en acides gras dans le muscle de flet



Les acides gras des lipides membranaires dans le muscle, peuvent révéler des informations sur la physiologie du poisson. En effet, la composition des membranes cellulaires du poisson est cruciale pour la maintenance des propriétés et des fonctions cellulaires, et donc pour l'état de santé de l'individu. Par exemple, la composition en acides gras membranaires peut influencer la fluidité et la perméabilité des membranes ; la capacité d'un organisme à s'adapter à un changement de température étant fortement liée à la proportion de PUFA dans ses membranes. Quand la température descend et que la membrane devient plus rigide, elle peut alors retrouver une certaine fluidité en incorporant des acides gras plus longs et plus insaturés (Guschina & Harwood 2006 ; Calabretti et al. 2003). Par exemple, EPA qui présente cinq doubles liaisons, peut créer des plis dans la membrane cellulaire, empêchant l'empilement serré des chaînes carbonées d'acides gras ; il en résulte un accroissement de la fluidité membranaire, permettant une meilleure flexibilité et adaptabilité aux changements environnementaux (Stillwell & Wassal 2003). A l'inverse, quand la température augmente et que la membrane devient plus fluide, les PUFA sont remplacés partiellement par des acides gras saturés (aucune double liaison), ce qui réduit le nombre de double liaisons et permet de réajuster la fluidité membranaire (Skalli et al 2006). Au final, l'analyse des acides gras des lipides membranaires permet d'explorer comment les poissons peuvent s'adapter à leur environnement.

L'ACP sur les acides gras membranaires (Fig.21) montre que les flets de l'Aven présentent un niveau moyen de EPA et DHA, et le plus fort niveau en DPA ; notons que ces trois acides gras

polyinsaturés de type omega-3 sont en relation par une seule voie métabolique, et présentent des propriétés majeures dans la neuroprotection (Dyall, 2015). Cette tendance dans l'Aven pourrait être un indicateur de la présence de zooplancton et/ou du bon état écologique global de cet hydrosystème.

Les acides gras membranaires des flets de Douffine sont invariablement caractérisés par une abondance de LA, ALA et OA, en relation avec l'activité aquacole (Fig.21). On observe cependant que ces individus montrent aussi une forte proportion en AA. Une étude a mis en évidence la prédominance de AA chez plusieurs poissons marins en milieux contaminés par différents métaux : Cd, Cu, Zn (Ajeeshkumar et al. 2015). Aussi, la forte contamination chronique de la Douffine par les métaux, principalement par des activités minières anciennes, pourrait expliquer le fort niveau de AA pour un poisson benthique comme le flet dans cet estuaire. De plus, un autre travail a confirmé que l'exposition aux métaux conduit au maintien de certains PUFA chez le poisson dont AA (Fadhlaoui & Couture 2016).

Pour l'Aber Wrac'h, on observe une forte valeur en DHA dans les acides gras membranaires, un composé essentiel pour maintenir l'intégrité des membranes cellulaires (Costanza 1992; Saito & Aono 2014) ; ce résultat pourrait être un indicateur d'une physiologie cellulaire efficace (fluidité et fonctionnalité optimisées) pour les flets de l'Aber Wrac'h.

Les poissons du Gouessant et du Quillimadec sont localisés au centre de l'ACP (Fig.21) et ne montrent donc pas de tendance particulière dans la distribution de leurs acides gras membranaires. On note que les poissons du Gouessant sont particulièrement regroupés et proches du centre de gravité de l'ACP. Les flets étant très rares dans l'estuaire du Gouessant, nous suggérons qu'un état d'équilibre entre les différents types d'acides gras membranaires pourrait être la seule manière pour le poisson d'assurer sa survie, dans ce système multistressé (eutrophisation, hypoxie, H₂S, cyanobactéries, stress thermique).

Enfin, on remarque à nouveau que les flets de la Flèche sont caractérisés par une forte présence de DMA au niveau des acides gras (Fig.21), qui pourrait être lié à un impact fort du stress oxydant sur les lipides des membranes cellulaires (Nagan & Zoeller 2001).

10.3 Pertinence de l'étude des acides gras sur le muscle de flet, pour le diagnostic environnemental

Par cette exploration sur les acides gras dans le muscle de flets juvéniles dans des estuaires à environnements contrastés, nous confirmons la pertinence de ces marqueurs pour produire un diagnostic sur : (1) la qualité trophique des milieux estuariens, et (2) l'état de santé du poisson, comme miroir de l'état de santé de l'estuaire.

Nous avons établi ci-dessous, un résumé sur les relations entre les profils d'acides gras dans le muscle du flet et la typologie des stressseurs dans les hydrosystèmes ECOEST (Tableau 9). Ce tableau suggère que les hydrosystèmes modérément stressés permettent au poisson estuarien d'intégrer dans son muscle des acides gras polyinsaturés majeurs comme DPA & DHA, synthétisés naturellement par les microalgues aquatiques (Péron et al. 2024) ; DPA/DHA/EPA sont en fait reliés par une voie métabolique unique et assurent une bonne maintenance de l'état de santé des vertébrés (Drouin et al. 2019).

Tableau 9. Profils en acides gras dans le muscle du flet juvénile en estuaires tempérés. (++) correspond à une forte proportion & (--) correspond à une faible proportion.

Estuarine systems	Total lipid fatty acids	Reserve lipid fatty acids	Membrane lipid fatty acids
Moderate eutrophication Moderate pollution (Aven)	PUFA (++) DPA (++) DHA (++)	DPA (++)	DPA (++)
Highly eutrophicated system High pressure of fish farming (Douffine)	MUFA (++) OA / LA / ALA (++)	OA / LA / ALA (++) DPA (- -) DHA (- -)	OA / LA / ALA (++) DPA (- -) DHA (- -) AA (+ +)
Multistressed system (Gouessant) - Nitrogen enrichment - Intensive breeding - H ₂ S - Cyanotoxins - Hypoxia - Heat stress	AA (++) Branched FAs (++) EPA (- -)	DHA (- -)	No trends
Multistressed system (Flèche) - Nitrogen enrichment - Intensive breeding - High pesticides levels	EPA (++)	OA / LA / ALA (++) DPA (- -) DHA (- -)	DMA (++)

Dans les hydrosystèmes stressés (Tableau 9), notre étude a mis en évidence une baisse générale des niveaux en DPA et DHA dans le muscle du flet qui pourrait être liée : (1) à une limitation trophique, comme suggéré pour un poisson vivant dans un estuaire très pollué, la Seine (Péron et al. 2024), (2) aux rejets d'une activité piscicole soutenue, ou (3) à un régime alimentaire constitué principalement de proies issues des apports terrestres. De plus, l'accroissement d'acides gras particuliers pourrait être lié à une réponse du flet au stress oxydatif impactant les lipides membranaires (DMA), et à une réponse immunitaire ou inflammatoire (AA). Notre étude suggère aussi que dans les hydrosystèmes présentant de nombreux stressseurs majeurs, comme l'estuaire du Gouessant, une pression sélective puisse s'exercer sur la population de flets, et conduite à maintenir une forte diversité dans les acides gras membranaires, pour assurer la survie du poisson en conditions extrêmes.

11. Métriques pour le diagnostic de l'état de santé des hydrosystèmes bretons

Le projet ECOEST nous a permis d'explorer l'état de santé de onze fleuves côtiers bretons présentant des surfaces de bassin versant allant de 70 à 400 Km². Ces surfaces relativement modestes présentent de nombreux avantages pour le développement d'une approche pluridisciplinaire, visant au diagnostic environnemental:

- la géographie permet de caractériser efficacement l'occupation du sol et les usages par les SIG sur les bassins versants;
- la distance limitée du cours d'eau principal de la source à la mer, permet de déterminer un profil hydrobiologique moyen du cours d'eau en termes de charge en azote et en pesticides, à partir des bases de données disponibles;

- les estuaires sont de tailles relativement réduites, et sont moins sujets aux altérations physiques de l'habitat (régression de la zone intertidale par la construction de ports, de digues, par dragage et chenalisation) relativement aux grands estuaires ; aussi, les altérations dans les petits estuaires sont principalement liées à la dégradation de la qualité de l'eau résultant des activités anthropiques sur l'ensemble du bassin versant. Au final, le niveau d'anthropisation d'un estuaire de petite taille peut être a priori évalué de façon efficace par l'impact de l'eutrophisation et de la pollution par les micropolluants sur le sédiment et le biote.

Les petits estuaires présentent par ailleurs une hétérogénéité environnementale particulièrement réduite par rapport aux grands estuaires, car les gradients environnementaux y sont nettement plus limités dans l'espace ; la diversité des microhabitats potentiels pour les poissons juvéniles y est donc nettement plus faible. Cette dernière caractéristique est d'un intérêt majeur, car elle va permettre de réduire de manière considérable la variabilité interindividuelle - intra estuarienne de la réponse du poisson à son environnement ; elle permet ainsi de mettre en œuvre les outils de la biologie moléculaire sur moins d'individus par estuaire, ce qui permet l'intégration des approches « omiques » dans une comparaison multi-estuaires à moindre coût.

Les conditions étaient réunies pour mettre en place notre approche pluridisciplinaire, multi-estuaire. Nous avons donc mis en évidence dans le projet ECOEST les relations entre la nature et le niveau d'anthropisation des bassins versants, son impact sur l'hydrobiologie en eau douce (mesure des charges en azote et en pesticides) et sur la contamination chimique du sédiment estuarien (métaux, PCBs, PAHs), enfin les réponses physiologiques et moléculaires du poisson face aux multiples stressseurs dans les estuaires (Fig.22).

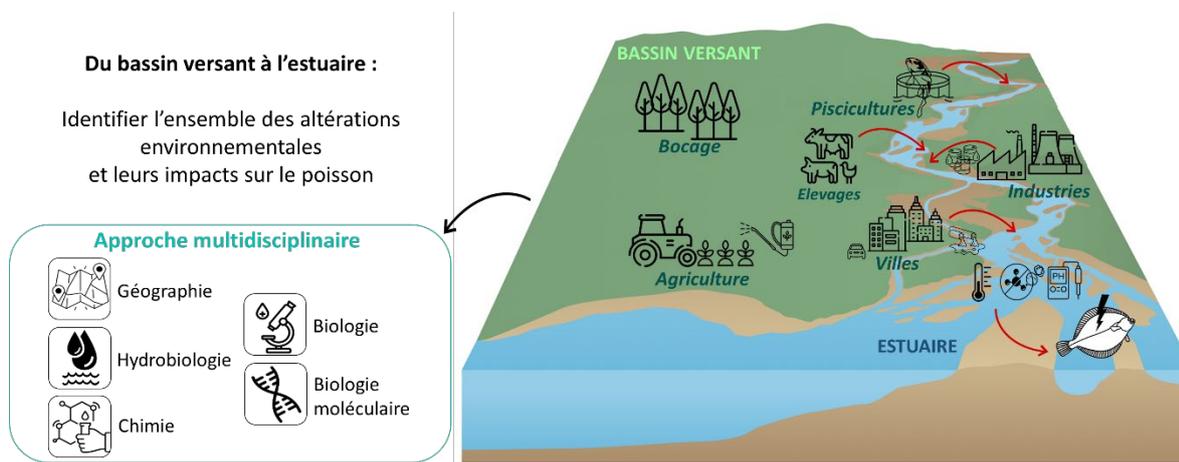


Figure 22. Approche multidisciplinaire développée dans le projet ECOEST.

Nous avons recensé dans les deux tableaux qui suivent (Tableaux 10 & 11) les principales « métriques diagnostic » qui nous ont permis d'identifier les stressseurs majeurs dans les onze hydrosystèmes du projet. Ces métriques pourraient être investiguées dans de futurs travaux sur le suivi temporel des fleuves côtiers breton, et devenir des outils d'aide à la décision pour les gestionnaires des hydrosystèmes.

Tableau 10. Métriques pour le diagnostic des hydrosystèmes ECOEST, échantillonnés en 2018 (+ métrique significative ; ++ métrique très significative ; -- valeur faible).

Métriques pour le diagnostic	Penzé - 2018	Horn - 2018	Aven - 2018	Scorff - 2018	Noyal - 2018
Bassin versant: Approche géographique sur l'occupation des sols et les usages	Pression agricole modérée: légumes - élevage - céréales (Ripisylve & Esp. naturels ++)	Pression agricole forte: légumes - élevage (Surface agricole & Elevage ++)	Pression agricole modérée: petits légumes (bocage ++) (Ripisylve & Esp. naturels ++)	Pression agricole modérée (Ripisylve & Esp. naturels ++)	Urbanisation - Activités artisanales (Surface artificialisée & Densité de population ++)
Eau douce - Azote inorganique	+	Nitrates ++ Nitrites ++ Ammonium ++	+	+	Nitrite ++ Ammonium ++
Eau douce - Pesticides	+	++	+	+	+
Estuaire - Sédiments - Eléments traces	As-Cd-Zn +			Cd-Zn +	Cu +
Estuaire - Sédiments - PAHs	+		++	+	+
Estuaire - Flet (muscle) - Eléments traces	Cd +		As +	Cd +	Cu - Zn +
Estuaire - Flet (muscle) - PCBs	PCBs ++				PCBs ++
Estuaire - Flet - Indice de condition	--	--			
Estuaire - Flet (otolithe) - Mn/Ca Hypoxie chronique				++	++
Estuaire - Flet (otolithe) - δ13C Taux d'activité métabolique			--		++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Détoxification Xénobiotiques (phase I)		++			++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Détoxification Xénobiotiques (phase II)		++			++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Détoxification (dérégulation du cycle de la méthionine)		++		++	++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Activation du cycle de l'urée		++			++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Biosynthèse du cholestérol & Perturbations endocriniennes				++	++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique Détoxification vis-à-vis de l'arsenic			++		
Interrogations sur de possibles pollutions	Nature géologique particulière du bassin versant ? Rejets possibles des carrières: pH, métaux, As ?	Rejets possibles en estuaire: effluents de la STEP de Santec en saison estivale ?	Pollution diffuse possible par l'épandage de boues algales ?	Pollutions possibles en estuaire : laiterie (pH, MES, DCO,N, P) - trafic routier RN 165 - décharge de Kerdual - poudrerie - chantier naval ?	Rejets possibles en estuaire: effluents de la STEP de Vannes en saison estivale ?

Tableau 11. Métriques pour le diagnostic des hydrosystèmes ECOEST, échantillonnés en 2020 (+ métrique significative ; ++ métrique très significative ; -- valeur faible).

Métriques pour le diagnostic	Gouessant - 2020	Guillec - 2020	Flèche - 2020	Quillimadec - 2020	Aber Wrac'h - 2020	Douffine - 2020
Bassin versant: Approche géographique sur l'occupation des sols et les usages	Pression agricole très forte: élevage - céréales (Surface agricole & Elevage ++)	Pression agricole forte: légumes - élevage (Surface agricole & Elevage ++)	Pression agricole forte: légumes - élevage (Surface agricole & Elevage ++)	Pression agricole forte (Surface agricole ++) (Urbanisation & Densité de population +)	Pression agricole forte (Surface agricole ++) (Urbanisation +)	Pression agricole faible / Pression piscicole forte (Ripisylve & Esp. Naturels ++)
Eau douce - Azote inorganique	+	Nitrates ++	+	+	+	+
Eau douce - Pesticides	++	++	+	+	+	+
Estuaire - Sédiments - Eléments traces					As +	Cd - Cu - Pb - Zn ++
Estuaire - Sédiments - PAHs				+	+	+
Estuaire - Flet (muscle) - Eléments traces						
Estuaire - Flet (muscle) - PCBs						
Estuaire - Flet - Indice de condition	--		--	--		
Estuaire - Flet (otolithe) - Mn/Ca Hypoxie chronique	++					++
Estuaire - Flet (otolithe) - δ13C						
Taux d'activité métabolique			++			
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Détoxification Xénobiotiques (phase I)		++			++	++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Détoxification Xénobiotiques (phase II)	++					
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Détoxification (dérégulation du cycle de la méthionine)		++	++			++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Activation du cycle de l'urée	++			++		++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Réponse à l'hypoxie	++					
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Réponse au stress thermique	++			++		
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Oxydation des acides gras			++			++
Estuaire - Flet (foie) - Protéomique						
Dérégulation du système immunitaire	++					
Interrogations sur de possibles pollutions	Eutrophisation: développement chronique de cyanobactéries en réservoirs de barrages ?		Rejets possibles des unités de lavage de légumes (glucosinolate et phenetyl isothiocyanate) ?	Pollution possible par la décharge enfouie de Kerjézéquel (Lesneven) ?	Pollution possible par les résidus de post extraction sur algues (épandages, effluents) ? Rejets possibles de laiterie (pH, MES, DCO, N, P) ?	Rejets possibles de l'activité industrielle ?

12. Conclusions & Perspectives sur la biosurveillance dans les fleuves côtiers bretons

Notre approche en biologie moléculaire (protéomique haut débit) sur le foie du flet s'est révélée d'un intérêt majeur pour approfondir les réponses du poisson au multistress en estuaire. Nous avons ainsi identifié les principaux stressseurs interagissant dans les estuaires bretons, et produit un premier bilan sur leur état écologique. Cette avancée est liée à l'intégration des connaissances acquises par la géographie des bassins versants, la chimie des polluants et différents marqueurs sur muscle et otolithe du poisson, en liens avec les réponses moléculaires au niveau de son foie. Notons que les gestionnaires des bassins versants du projet ECOEST disposent désormais d'un état des lieux (2018-2020) des onze hydrosystèmes, et donc de « métriques diagnostic » pour suivre l'état de santé de ces fleuves côtiers dans le temps (maintien – amélioration – dégradation ?), particulièrement en réponse à des opérations de restauration dans les systèmes anthropisés.

Les analyses du protéome hépatique des flets de l'Aven peuvent mettre en évidence des différences significatives dans les quantités de protéines estimées, pour plusieurs marqueurs moléculaires de 2018 à 2020. Cette variabilité temporelle dans les signatures moléculaires du foie pour un même hydrosystème est probablement liée aux variations hydroclimatiques interannuelles. Nous avons cependant remarqué que les marqueurs non moléculaires (signatures environnementales et signatures physiologiques sur le flet) varient faiblement de 2018 à 2020, suggérant que l'Aven est un « système de référence » relativement stable dans le temps. Néanmoins, cette variabilité temporelle dans les signatures du poisson pourrait devenir croissante avec le changement climatique en cours, qui peut conduire à deux années successives très contrastées au niveau hydroclimatique.

Ces observations nous permettent de souligner un aspect crucial de la recherche en écologie du stress dans les futures approches multi-estuariennes : la variabilité temporelle. En effet, si l'on souhaite comparer différents hydrosystèmes, il devient impératif de prendre en compte les variations environnementales interannuelles. Comme évoqué plus haut, le changement climatique risque d'accentuer davantage ces fluctuations hydroclimatiques, ce qui pourrait fortement compliquer les comparaisons entre les années. Dans une approche multi-estuaire il est donc essentiel de réaliser l'ensemble de l'échantillonnage, si possible la même année, pour obtenir les résultats les plus pertinents.

Un autre défi en écologie du stress réside dans le choix d'un « système de référence ». En effet, l'identification d'un tel système, présentant un faible niveau d'eutrophisation et de contamination chimique ainsi qu'une faible altération de son habitat, est particulièrement difficile, notamment en milieu estuarien réceptacle de la multiplicité des actions anthropiques sur l'ensemble de l'hydrosystème. Le problème est rendu complexe par le manque de données historiques sur l'état de santé des petits hydrosystèmes qui sont encore très peu étudiés au niveau national. L'idéal dans toute approche multi-estuaire serait de sélectionner, par l'analyse d'un maximum de données environnementales disponibles, plusieurs « systèmes de référence », ie des systèmes soumis à un nombre très limité de stressseurs, le niveau 0 stressseur n'existant plus ; en veillant à ce que tous les hydrosystèmes retenus, « de référence » et « stressés », s'inscrivent dans le même contexte hydroclimatique régional.

Au final, nous suggérons des pistes pour améliorer l'identification des stressseurs dans les fleuves côtiers bretons :

(1) La pose de sondes *in situ* dans la partie amont des estuaires et l'enregistrement en continu des paramètres majeurs de l'environnement aquatique (température, oxygène dissous, pH, conductivité, turbidité), sur une période de trois mois avant l'échantillonnage du poisson, serait d'un intérêt majeur ; elle permettrait de décrire l'environnement de l'habitat du poisson qui va conditionner sa physiologie et ses capacités à répondre à d'éventuels stressseurs. Ces sondes permettraient ainsi de différencier potentiellement les estuaires au niveau des paramètres environnementaux confondants de l'environnement (ie pouvant modifier la physiologie du poisson, mais n'altérant pas son intégrité physique).

Notons que l'on observe dans certains systèmes estuariens une augmentation parfois rapide de la turbidité des eaux, même lors d'épisodes pluvieux relativement modérés. De nombreux riverains de zones estuariennes relatent ainsi une augmentation générale de la turbidité des eaux en saison hivernale sur plusieurs fleuves côtiers bretons, ces dernières décennies. La turbidité, principalement induite par les particules en suspension, surtout liée à l'érosion des sols et aggravée par les sols nus, l'agriculture intensive, la dégradation du bocage et de la ripisylve, pourrait donc devenir un paramètre crucial pour estimer l'état de santé des hydrosystèmes dans le futur.

(2) Le suivi des polluants dans les eaux estuariennes est difficile à mettre en place, de par l'extrême diversité des molécules présentes, souvent à des concentrations très faibles. L'immersion d'échantillonneurs intégratifs passifs de type POCIS (« Polar Organic Chemical Integrative Sampler » destinés à l'analyse des composés organiques polaires) dans la partie amont des petits estuaires bretons, nous paraît d'un intérêt majeur. Ces dispositifs offrent une solution économique pour concentrer les polluants à faibles concentrations dans les eaux naturelles, lors d'une période d'immersion de trente jours en moyenne. Ces dispositifs nous permettraient notamment de cibler des analyses chimiques complémentaires sur les polluants émergents dans les eaux estuariennes comme les composés pharmaceutiques et leurs métabolites, les produits de soins corporels ; la grande majorité des stations d'épuration ne disposant pas de la technologie pour éliminer ces contaminants émergents qui présentent un risque certain pour la faune aquatique (Topic Popovic et al. 2023).

13. Références

- Aarnio, K. (2000). Experimental evidence of predation by juvenile flounder, *Platichthys flesus*, on a shallow water meiobenthic community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 246(1), 125-138. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00175-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00175-6)
- Ajeeshkumar, K. K., Vishnu, K. V., Kumari, K. R., Navaneethan, R., Asha, K. K., Ganesan, B., Niladri, S. C., Anandan, R. & Mathew, S. (2015). Biochemical composition and heavy metal content of selected marine fish from the Gulf of Mannar, India. *Fishery Technology*, 53, 164-169. <http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/FT>
- Alaoui, A., Christ, F., Abrantes, N., Siva, V., Gonzalez, N., Gai, L., Harkes, P., Navarro, I., de la Torre, A., Martinez, M. A., Norgaard, T., Vested, A., Schlünssen, V., Aparicio, V. C., Campos, I., Paskovic, I., Polic, Paskovic, M., Galvan, M., Ritsema, C., & Geissen, V. (2024). Assessing pesticide residue occurrence and risks in the environment across Europe and Argentina. *Environmental Pollution*, 363, 125056. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125056>
- Alfaro, A. C., Thomas, F., Sargent, L., & Duxbury, M. (2006). Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 70(1-2), 271-286. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.06.017>
- Ali, S. S., Ahmad, N., Jamal Gilani, S., & Ali Khan, N. (2018). Isothiocyanates: a review. *Research Journal of Pharmacognosy*, 5(2), 71-89. <https://doi.org/10.22127/rjp.2018.58511>
- Amara, R., Selleslagh, J., Billon, G., & Minier, C. (2009). Growth and condition of 0-group European flounder, *Platichthys flesus* as indicator of estuarine habitat quality. *Hydrobiologia*, 627, 87-98. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-9717-9>
- Amirkolaie, A. K. (2011). Reduction in the environmental impact of waste discharged by fish farms through feed and feeding. *Reviews in Aquaculture*, 3(1), 19-26. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01040.x>
- Bahamonde, P. A., Feswick, A., Isaacs, M. A., Munkittrick, K. R., & Martyniuk, C. J. (2016). Defining the role of omics in assessing ecosystem health: perspectives from the Canadian environmental monitoring program. *Environmental toxicology and chemistry*, 35(1), 20-35. <https://doi.org/10.1002/etc.3218>
- Barker, M., & Rayens, W. (2003). Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*, 17(3), 166-173. <https://doi.org/10.1002/cem.785>
- Bennett, K. A., Robinson, K. J., Armstrong, H. C., Moss, S. E., Scholl, G., Tranganida, A., Eppe, G., Thomé, J.-P., Debier, C. & Hall, A. J. (2021). Predicting consequences of POP-induced disruption of blubber glucose uptake, mass gain rate and thyroid hormone levels for weaning mass in grey seal pups. *Environment international*, 152, 106506. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106506>
- Bernard, M., Boutry, S., Lissalde, S., Guibaud, G., Saüt, M., Rebillard, J.P., & Mazzella, N. (2019). Combination of passive and grab sampling strategies improves the assessment of pesticide occurrence and contamination levels in a large-scale watershed. *Science of The Total Environment*, 651, 684-695. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.202>
- Bernier-Graveline, A., Lesage, V., Cabrol, J., Lair, S., Michaud, R., Rosabal, M., & Verreault, J. (2021). Lipid metabolites as indicators of body condition in highly contaminant-exposed belugas from the endangered St. Lawrence Estuary population (Canada). *Environmental Research*, 192, 110272. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110272>

- Bessonart, M., Izquierdo, M. S., Salhi, M., Hernandez-Cruz, C. M., Gonzalez, M. M., & Fernandez-Palacios, H. (1999). Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. *Aquaculture*, 179(1-4), 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00164-7)
- Blasina, G. E., Ronda, A. C., Botté, S. E., Molina, J. M., Labudia, A. C., Marcovecchio, J. E., & Lopez-Cazorla, A. (2020). Metabolic and physiological responses of a coastal fish in highly and lightly impacted habitats. *Journal of Marine Systems*, 212, 103423. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2020.103423>
- Boinot, S., Alignier, A., Pétilion, J., Ridel, A., Aviron, S., 2023. Hedgerows are more multifunctional in preserved bocage landscapes. *Ecological Indicators*, 154, 110689. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110689>.
- Boithias, L., Sauvage, S., Taghavi, L., Merlina, G., Probst, J.L., & Sanchez Pérez, J.M. (2011). Occurrence of metolachlor and trifluralin losses in the Save river agricultural catchment during floods. *Journal of Hazardous Materials*, 196, 210-219. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.012>
- Borcier, E., Artigaud, S., Gaillard, J. C., Armengaud, J., Charrier, G., Couteau, J., Receveur, J., Ouddane, B., Diop, M., Amara, R., Laroche, J., & Pichereau, V. (2019). Coupling caging and proteomics on the European flounder (*Platichthys flesus*) to assess the estuarine water quality at micro scale. *Science of the Total Environment*, 695. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133760>
- Borcier, E., Charrier, G., Amérand, A., Théron, M., Loizeau, V., Pédrón, N., & Laroche, J. (2016). Bioenergetic transcriptomic responses of European flounder (*Platichthys flesus*) populations in contrasted environments: impacts of pollution and global warming. *Journal of Xenobiotics*, 6(1), 28–32. <https://doi.org/10.4081/xeno.2016.6586>
- Borcier, E., Charrier, G., Couteau, J., Maillet, G., le Grand, F., Bideau, A., Waeles, M., le Floch, S., Amara, R., Pichereau, V., & Laroche, J. (2020). An Integrated Biomarker Approach Using Flounder to Improve Chemical Risk Assessments in the Heavily Polluted Seine Estuary. *Journal of Xenobiotics*, 10(2), 14–35. <https://doi.org/10.3390/jox10020004>
- Brenot, A., Gourcy, L., Allier D., Mascre, C., Pons, A., Chery, L., Blum, A. (2007). Identification des zones à risque de fond géochimique élevé en éléments traces dans les cours d'eau et les eaux souterraines. Cinq volumes (Bassin Artois-Picardie, Bassin Rhin-Meuse, Bassin Seine-Normandie, Bassin Loire-Bretagne, Bassin Adour-Garonne). BRGM/RP-55346-FR, 774 p.
- Brett, M.T., Bunn, S.E., Chandra, S., Galloway, A.W.E., Guo, F., Kainz, M.J., Kankaala, P., Lau, D.C.P., Moulton, T.P., Power, M.E., Rasmussen, J.B., Taipale, S.J., Thorp, J.H. & Wehr, J.D. (2017). How important are terrestrial organic carbon inputs for secondary production in freshwater ecosystems? *Freshwater Biology*, 62, 833–853. <https://doi.org/10.1111/fwb.12909>.
- Burkina, V., Zlabek, V., & Zamaratskaia, G. (2015). Effects of pharmaceuticals present in aquatic environment on Phase I metabolism in fish. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(2), 430-444. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.07.016>
- Cai, H., Piccolroaz, S., Huang, J., Liu, Z., Liu, F., & Toffolon, M. (2018). Quantifying the impact of the Three Gorges Dam on the thermal dynamics of the Yangtze River. *Environmental Research Letters*, 13(5), 054016. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aab9e0>
- Calabretti, A., Cateni, F., Procida, G., Favretto, L. G. (2003). Influence of environmental temperature on composition of lipids in edible flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1493–1498. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1566>

- Calder, P. C. (2020). Eicosanoids. *Essays in Biochemistry*, 64(3), 423-441. <https://doi.org/10.1042/EBC20190083>
- Caquet, T., Roucaute, M., Mazzella, N., Delmas, F., Madigou, C., Farcy, E., Burgeot, T., & Allenou, J.-P. (2013). Risk of herbicides and booster biocides along estuarine continuums in the Bay of Vilaine (Brittany, France). *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 651–666. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1171-y>
- Carluer, N., Catalogne, C., Dagès, C., & Tournebize, J. (2017). Aménager le territoire et gérer les aménagements : les zones tampons sèches et humides, les fossés pour lutter contre les pollutions diffuses par les produits phytosanitaires dans les aires de captage. *Innovations Agronomiques*, 57, 117–139. <https://doi.org/10.15454/1.5137822668081328E12>
- Casado, J., Brigden, K., Santillo, D., & Johnston, P. (2019). Screening of pesticides and veterinary drugs in small streams in the European Union by liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 670, 1204–1225. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.207>
- Castro-Torres, I. G., Castro-Torres, V. A., Hernández-Lozano, M., Naranjo-Rodríguez, E. B., & Domínguez-Ortiz, M. Á. (2020). Glucosinolates and metabolism. In *Glucosinolates: properties, recovery, and applications* (pp. 107-141). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816493-8.00004-4>
- Catalogne, C., & Hénaff, G. le. (2016). Guide d'aide à l'implantation des zones tampons pour l'atténuation des transferts de contaminants d'origine agricole. 69. <https://hal.inrae.fr/hal-02604919>
- Chene, P., Cechowska-Pasko, M., & Bankowski, E. (2006). The effect of hypoxia on the expression of 150 kDa oxygen-regulated protein (ORP 150) in HeLa cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 17(1-2), 89-96. <https://doi.org/10.1159/000091467>
- Cheng, S.Y., Chen, J.C. (2001). The time-course change of nitrogenous excretion in the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* following nitrite exposure. *Aquatic Toxicology*. 51 (4), 443–454. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)001223](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(00)001223).
- Chiffolleau, J.-F. (2017). La contamination chimique sur le littoral Loire-Bretagne. Résultats de 35 années de suivi du Réseau d'Observation de la Contamination Chimique. RST.RBE-BE/2017.02. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00405/51617/>
- Corriveau, J. (2009). Etude des concentrations toxiques dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole. Thèse de doctorat en Sciences de l'eau. Université du Québec. 137 p.
- Costanza, R. (1992). Toward an operational definition of ecosystem health, in *Ecosystem Health: New Goals for Environmental Management* (Costanza, R., Norton, B.G. and Haskell, B.D., eds), 239-256, Island Press
- Coulter, C.B., Kolka, R.K., Thompson, J.A., 2004. Water quality in agricultural, urban, and mixed land use watersheds. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 40(6), 1593-1601. <https://doi.org/10.1111/j.1752-1688.2004.tb01608.x>.
- Crisan M. (2020). Pratiques culturales en grandes cultures 2017, IFT et nombre de traitements, Agreste Chiffres et Données.
- Cuevas, N., Martins, M., & Costa, P. M. (2018). Risk assessment of pesticides in estuaries: a review addressing the persistence of an old problem in complex environments. *Ecotoxicology*, 27(7), 1008–1018. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1910-z>

- Cui, D., Zhang, P., Li, H., Zhang, Z., Song, Y., & Yang, Z. (2021). The dynamic changes of arsenic biotransformation and bioaccumulation in muscle of freshwater food fish crucian carp during chronic dietborne exposure. *Journal of Environmental Sciences*, 100, 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.07.005>
- Dalsgaard, J., John, M. S., Kattner, G., Müller-Navarra, D., & Hagen, W. (2003). Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Advances in Marine Biology*, 46, 225-340. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(03\)46005-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(03)46005-7)
- Dando, P. R. (2011). Site fidelity, homing and spawning migrations of flounder *Platichthys flesus* in the Tamar estuary, South West England. *Marine Ecology Progress Series*, 430, 183-196. <https://doi.org/10.3354/meps09116>
- Daniels, M. E., & Danner, E. M. (2020). The drivers of river temperatures below a large dam. *Water Resources Research*, 56(5), e2019WR026751. <https://doi.org/10.1029/2019WR026751>
- De Carvalho, C. C., & Caramujo, M. J. (2018). The various roles of fatty acids. *Molecules*, 23(10), 2583. <https://doi.org/10.3390/molecules23102583>
- de los Ríos, A., Pérez, L., Echavarri-Erasun, B., Serrano, T., Barbero, M. C., Ortiz-Zarragoitia, M., Orbea, A., Juanes, J. A., & Cajaraville, M. P. (2016). Measuring biological responses at different levels of organisation to assess the effects of diffuse contamination derived from harbour and industrial activities in estuarine areas. *Marine Pollution Bulletin*, 103(1–2), 301–312. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.056>
- Dempson, J. B., Braithwaite, V. A., Doherty, D., & Power, M. (2010). Stable isotope analysis of marine feeding signatures of Atlantic salmon in the North Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, 67(1), 52-61. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsp227>
- Denisenko, Y. K., Lobanova, E. G., Novgorodtseva, T. P., Gvozdenko, T. A., & Nazarenko, A. V. (2015). The role of arachidonic acid metabolites (endocannabinoids and eicosanoids) in the immune processes: a review. *International Journal of Chemical and Biomedical Science*, 1(3), 70-78.
- Devau N., Lions J., Schomburgk S., Bertin C., Blanc, P., Mathurin F., Thinon-Larminach M., Lucassou F., Le Guern C., Tourlière B., Doney C., Salquebre D., Chretien P., Boisson A., Sedan O., Gourcy L. (2017). Etude par approche globale des fonds hydrogéochimiques des eaux souterraines sur le bassin Loire-Bretagne. BRGM/RP-67573-FR, 192.
- Devault, D. A., Gérino, M., Laplanche, C., Julien, F., Winterton, P., Merlina, G., Delmas, F., Lim, P., Sánchez-Pérez, J. M. & Pinelli, E. (2009). Herbicide accumulation and evolution in reservoir sediments. *Science of the total environment*, 407(8), 2659-2665. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.12.064>
- Ding, J., Zhang, Y., Wang, J., Liu, C., Gao, X., Wu, Y., Wang, J., Zhu, J., & Shen, W. (2022). Genome-wide association study identified candidate SNPs and genes associated with hypoxia tolerance in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*, 560, 738472. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738472>
- Du, B., Liu, G., Ke, M., Zhang, Z., Zheng, M., Lu, T., Sun, L., & Qian, H. (2019). Proteomic analysis of the hepatotoxicity of *Microcystis aeruginosa* in adult zebrafish (*Danio rerio*) and its potential mechanisms. *Environmental Pollution*, 254, 113019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113019>
- Du, M., Wei, D., Tan, Z., Lin, A., & Du, Y. (2015). The potential risk assessment for different arsenic species in the aquatic environment. *Journal of Environmental Sciences*, 27, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.03.006>

- Dufour, V., Stahl, M., & Baysse, C. (2015). The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology*, 161(2), 229-243. <https://doi.org/10.1099/mic.0.082362-0>
- Dupuy, C., Galland, C., Pichereau, V., Sanchez, W., Riso, R., Labonne, M., Amara, R., Charrier, G., Fournier, M., & Laroche, J. (2015). Assessment of the European flounder responses to chemical stress in the English Channel, considering biomarkers and life history traits. *Marine Pollution Bulletin*, 95, 634–645. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.033>
- Dyall, S.C. (2015). Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 7(52). <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2015.00052>
- Elliott, M. (2011). Marine science and management means tackling exogenic unmanaged pressures and endogenic managed pressures - A numbered guide. *Marine Pollution Bulletin*, 62(4), 651–655. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.11.033>
- Evrard, E., Marchand, J., Theron, M., Pichavant-Rafini, K., Durand, G., Quiniou, L., & Laroche, J. (2010). Impacts of mixtures of herbicides on molecular and physiological responses of the European flounder (*Platichthys flesus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 152, 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.05.009>
- Fadhlaoui, M., & Couture, P. (2016). Combined effects of temperature and metal exposure on the fatty acid composition of cell membranes, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquatic Toxicology*, 180, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.09.005>
- Fagan, K. A., Koops, M. A., Arts, M. T., & Power, M. (2011). Assessing the utility of C: N ratios for predicting lipid content in fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(2), 374-385. <https://doi.org/10.1139/F10-119>
- Falfushynska, H., Kasianchuk, N., Siemens, E., Henao, E., & Rzymyski, P. (2023). A review of common cyanotoxins and their effects on fish. *Toxics*, 11(2), 118. <https://doi.org/10.3390/toxics11020118>
- Fernandez-Jover, D., Martinez-Rubio, L., Sanchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J. T., Jimenez, J. A. L., Lopez, F. J. M., Bjørn, P. A., Uglem, I. & Dempster, T. (2011). Waste feed from coastal fish farms: a trophic subsidy with compositional side-effects for wild gadoids. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 91(4), 559-568. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.12.009>
- Filimonova, V., Goncalves, F., Marques, J. C., De Troch, M., & Goncalves, A. M. (2016). Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine organisms: a review. *Ecological indicators*, 67, 657-672. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.03.044>
- Francesconi, K. A. (1994). Biotransformation of arsenic in the marine environment. *Advanced Journal of Environmental Science and Technology*, 25, 221-261.
- Galland, C., Dupuy, C., Loizeau, V., Danion, M., Auffret, M., Quiniou, L., Laroche, J. & Pichereau, V. (2015). Proteomic analysis of the European flounder *Platichthys flesus* response to experimental PAH–PCB contamination. *Marine pollution bulletin*, 95(2), 646-657. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.038>
- Gavrilescu, M. (2005). Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, 5(6), 497–526.
- Ge, F., Wang, X., Zhang, K., Jin, X., Guo, R., Liu, Y., Qiao, X., Zhao, X., Zheng, B., & Zheng, X. (2019). The correlation study between PCBs and $\delta^{15}\text{N}$ values or FAs in fish collected from Dongting Lake. *Chemosphere*, 234, 763-768. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.094>

- Ghasemi Fard, S., Wang, F., Sinclair, A. J., Elliott, G., & Turchini, G. M. (2019). How does high DHA fish oil affect health? A systematic review of evidence. *Food Science and Nutrition*, 59, 1684–1727. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425978>
- Gonçalves, A. M. M., Azeiteiro, U. M., Pardal, M. A., & De Troch, M. (2012). Fatty acid profiling reveals seasonal and spatial shifts in zooplankton diet in a temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 109, 70-80. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2012.05.020>
- Gonçalves, A. M. M., Mesquita, A. F., Verdelhos, T., Coutinho, J. A. P., Marques, J. C., & Gonçalves, F. (2016). Fatty acids' profiles as indicators of stress induced by of a common herbicide on two marine bivalves species: *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) and *Scrobicularia plana* (da Costa, 1778). *Ecological Indicators*, 63, 209-218. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.006>
- Gonçalves, A. M., Rocha, C. P., Marques, J. C., & Gonçalves, F. J. (2021). Fatty acids as suitable biomarkers to assess pesticide impacts in freshwater biological scales—A review. *Ecological Indicators*, 122, 107299. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107299>
- Gong, D., Xu, L., Li, W., Shang, R., Chen, J., Hu, F., Wang, S., Liu, Q., Wu, C., Zhou, R., Zhang, C., Tao, M., Wang, Y., & Liu, S. (2020). Comparative analysis of liver transcriptomes associated with hypoxia tolerance in the gynogenetic blunt snout bream. *Aquaculture*, 523, 735163. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735163>
- Gouveia, D., Almunia, C., Cogne, Y., Pible, O., Degli-Esposti, D., Salvador, A., Cristobal, S., Sheehan, D., Chaumot, A., Geffard, O., & Armengaud, J. (2019). Ecotoxicoproteomics: A decade of progress in our understanding of anthropogenic impact on the environment. *Journal of Proteomics*, 198, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.001>
- Greenfield, R., Wepener, V., Degger, N., & Brink, K. (2011). Richards Bay Harbour: Metal exposure monitoring over the last 34 years. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1926–1931. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.04.026>
- Greger, M., Malm, T., & Kautsky, L. (2007). Heavy metal transfer from composted macroalgae to crops. *European Journal of Agronomy*, 26(3), 257-265. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.10.003>
- Grimaldi, C., Fossey, M., Thomas, Z., Fauvel, Y., & Merot, P. (2012). Nitrate attenuation in soil and shallow groundwater under a bottomland hedgerow in a European farming landscape. *Hydrological Processes*, 26(23), 3570–3578. <https://doi.org/10.1002/HYP.8441>
- Guedes, A. C., Amaro, H. M., Barbosa, C. R., Pereira, R. D., & Malcata, F. X. (2011). Fatty acid composition of several wild microalgae and cyanobacteria, with a focus on eicosapentaenoic, docosahexaenoic and α -linolenic acids for eventual dietary uses. *Food Research International*, 44(9), 2721-2729. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.020>
- Guo, F., Bunn, S. E., Brett, M. T., Fry, B., Hager, H., Ouyang, X., & Kainz, M. J. (2018). Feeding strategies for the acquisition of high-quality food sources in stream macroinvertebrates: Collecting, integrating, and mixed feeding. *Limnology and Oceanography*, 63(5), 1964-1978. <https://doi.org/10.1002/lno.10818>.
- Guschina, I. A., & Harwood, J. L. (2006). Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. *FEBS Letters*, 580, 5477–5483. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.06.066>
- Halden, N.M., Friedrich, L.A. (2008). Trace-element distribution in fish otoliths: natural markers of life histories, environmental conditions and exposure to tailings effluence. *Mineral. Mag.* 72(2), 593-605. <https://doi.org/10.1180/minmag.2008.072.2.593>.

- Hanna, V. S., & Hafez, E. A. A. (2018). Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. *Journal of advanced research*, 11, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.03.005>
- Hassan, I., Jabir, N. R., Ahmad, S., Shah, A., & Tabrez, S. (2015). Certain phase I and II enzymes as toxicity biomarker: an overview. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(5), 1-8. <https://doi.org/10.1007/bf02803638>.
- Helal, A. M., Attia, A. M., & Mustafa, M. M. (2017). Water conservation and management of fish farm in Lake Mariout. *Life Science Journal*, 14(11), 44-51. <http://www.dx.doi.org/10.7537/marslsj141117.08>
- Helal, M., Ghanem, S., & El-Sikaily, A. (2022). Impact of PCBs, furan and dioxin on hepatocarcinogenesis. *Persistent Organic Pollutants (POPs)-monitoring, impact and treatment*.
- Hixson, S. M., Sharma, B., Kainz, M. J., Wacker, A., & Arts, M. T. (2015). Production, distribution, and abundance of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: a fundamental dichotomy between freshwater and terrestrial ecosystems. *Environmental Reviews*, 23(4), 414-424. <https://doi.org/10.1139/er-2015-0029>
- Huang, Z., Qadeer, A., Zheng, S., Ge, F., Zhang, K., Yin, D., Zheng, B., & Zhao, X. (2022). Fatty acid profile as an efficient bioindicator of PCB bioaccumulation in a freshwater lake food web: a stable isotope guided investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127121. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127121>
- Hüssy, K., Limburg, K.E., de Pontual, H., Thomas, O.R., Cook, P.K., Heimbrand, Y., Blass, M., Sturrock, A.M. (2021). Trace elements in otoliths: the role of biomineralization. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 29(4), 445-477. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1760204>.
- Iverson, S. J. (2009). Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. In *Lipids in aquatic ecosystems*, 281-308. New York, NY: Springer New York.
- Jankowska, B., Zakęś, Z., Żmijewski, T., Ulikowski, D., & Kowalska, A. (2004). Impact of diet on the fatty acids profile of European catfish (*Silurus glanis* L.). *Fisheries & Aquatic Life*, 12(2), 99-100.
- Jeffrey, J. D., Jeffries, K. M., & Suski, C. D. (2019). Physiological status of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in the Illinois River: An assessment of fish at the leading edge of the invasion front. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 32, 100614. <https://doi.org/10.1016/J.CBD.2019.100614>
- Jezyk, P. F., & Penicnak, A. J. (1966). Fatty acid relationship in an aquatic food chain. *Lipids*, 1(6), 427-429. <https://doi.org/10.1007/BF02532547>
- Jiang, S., Hong, P., & Katayama, S. (2022). What is the relationship between hypoxia, water chemistry and otolith manganese content?. *Journal of Fish Biology*, 100(5), 1138-1149. <https://doi.org/10.1111/jfb.15041>
- Johnson, L. E., McMeans, B., Rooney, N., Gutgesell, M., Moccia, R., & McCann, K. S. (2018). Asymmetric assimilation of an anthropogenic resource subsidy in a freshwater food web. *Food Webs*, 15, e00084. <https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2018.e00084>
- Kajiwarra, K., Muneoka, T., Watanabe, Y., Karashima, T., Kitagaki, H., & Funato, K. (2012). Perturbation of sphingolipid metabolism induces endoplasmic reticulum stress-mediated mitochondrial apoptosis in budding yeast. *Molecular microbiology*, 86(5), 1246-1261. <https://doi.org/10.1111/mmi.12056>

- Kelly, J. R., & Scheibling, R. E. (2012). Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 446, 1-22. <https://doi.org/10.3354/meps09559>
- Keva, O., Taipale, S. J., Hayden, B., Thomas, S. M., Vesterinen, J., Kankaala, P., & Kahilainen, K. K. (2021). Increasing temperature and productivity change biomass, trophic pyramids and community-level omega-3 fatty acid content in subarctic lake food webs. *Global change biology*, 27(2), 282-296. <https://doi.org/10.1111/gcb.15387>
- Kharlamenko, V. I., Kiyashko, S. I., Imbs, A. B., & Vyshkvartzev, D. I. (2001). Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 220, 103-117. <https://doi.org/10.3354/meps220103>
- Kühmayer, T., Guo, F., Ebm, N., Battin, T. J., Brett, M. T., Bunn, S. E., Fry, B., & Kainz, M. J. (2020). Preferential retention of algal carbon in benthic invertebrates: Stable isotope and fatty acid evidence from an outdoor flume experiment. *Freshwater Biology*, 65(7), 1200-1209. <https://doi.org/10.1111/fwb.13492>
- Kumar, M., Gupta, V., Trivedi, N., Kumari, P., Bijo, A. J., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2011). Desiccation induced oxidative stress and its biochemical responses in intertidal red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta). *Environmental and Experimental Botany*, 72(2), 194-201. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.03.007>
- Kumar, M., Kumari, P., Gupta, V., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2010). Biochemical responses of red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 391(1-2), 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.06.001>
- Lacroix, C., le Cuff, N., Receveur, J., Moraga, D., Auffret, M., & Guyomarch, J. (2014). Development of an innovative and “green” stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–tandem mass spectrometry method for quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine biota. *Journal of Chromatography A*, 1349, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2014.04.094>
- Laroche, J., Gauthier, O., Quiniou, L., Devaux, A., Bony, S., Evrard, E., Cachot, J., Chérel, Y., Larcher, T., Riso, R., Pichereau, V., Devier, M. H., & Budzinski, H. (2013). Variation patterns in individual fish responses to chemical stress among estuaries, seasons and genders: the case of the European flounder (*Platichthys flesus*) in the Bay of Biscay. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 738–748.
- Laskowski, J., & Thurman, J. M. (2018). Factor B. The complement factsbook (Second Edition), 135-146. Academic press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810420-0.00014-6>.
- Laurent, J., Diop, M., Amara, R., Fisson, C., Armengaud, J., Labadie, P., Budzinski, H., Couteau, J., Maillet, G., Le Floch, S., Laroche, J., Pichereau, V. (2024). Relevance of flounder caging and proteomics to explore the impact of a major industrial accident caused by fire on the Seine estuarine water quality. *Marine Pollution Bulletin*, 201, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116178>
- Laurent, J., Lavergne, E., Couteau, J., le Floch, S., Ouddane, B., Cachot, J., Davail, B., Clérandeau, C., Devin, S., Fisson, C., Devaux, A., Amara, R., Diop, M., Pichereau, V., & Laroche, J. (2022). Impacts of chemical stress, season, and climate change on the flounder population of the highly anthropised Seine estuary (France). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(39), 59751–59769. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20000-y>

- Lazado, C. C., Stiller, K. T., Timmerhaus, G., Reiten, B. K. M., Nicolaysen, I. L., Carletto, D., Alipio, H. R. D., Bergstedt, J.H., & Andersen, Ø. (2024). Mucosal and systemic physiological changes underscore the welfare risks of environmental hydrogen sulphide in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 270, 115897. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115897>
- Le Cor, F., Slaby, S., Dufour, V., Iuretig, A., Feidt, C., Dauchy, X., Banas, D. (2021). Occurrence of pesticides and their transformation products in headwater streams: contamination status and effect of ponds on contaminant concentrations. *Science of the Total Environment*, 788,147715. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147715>
- Le Manach, S., Sotton, B., Huet, H., Duval, C., Paris, A., Marie, A., Yépreman, C., Catherine, A., Mathéron, L., Vinh, J., Edery, M., & Marie, B. (2018). Physiological effects caused by microcystin-producing and non-microcystin producing *Microcystis aeruginosa* on medaka fish: A proteomic and metabolomic study on liver. *Environmental pollution*, 234, 523-537. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.011>
- Lebigre, C., Aminot, Y., Munsch, C., Drogou, M., Le Goff, R., Briant, N., & Chauvelon, T. (2022). Trace elements and organic contaminants are differently related to the growth and body condition of wild European sea bass juveniles. *Aquatic Toxicology*, 248, 106207. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106207>
- Lee, D. H., Jacobs, D. R., & Porta, M. (2009). Hypothesis: a unifying mechanism for nutrition and chemicals as lifelong modulators of DNA hypomethylation. *Environmental Health Perspectives*, 117(12), 1799–1802. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900741>
- Leenhardt, S., Mamy, L., Pesce, S., Sanchez, W., et al. (2022). Impacts des produits phytopharmaceutiques sur la biodiversité et les services écosystémiques. Rapport d'ESCO, INRAE - Ifremer (France), 1408 pages.
- Leeuwis, R. H., & Gamperl, A. K. (2022). Adaptations and plastic phenotypic responses of marine animals to the environmental challenges of the high intertidal zone. *Oceanography and Marine Biology*, 625-679. CRC Press.
- Lefebvre du Prey, M., Lobry, J., Brind'Amour, A., Le Bris, H., & Sadoul, B. (2023). Assessing food limitation for marine juvenile fishes in coastal nursery using a bioenergetic approach. *Ecological Modelling*, 482, 110419. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2023.110419>
- Lerebours, A., Diallo, T., Lecureuil, A., Receveur, J., Huet, V., Parinet, J., Guérin, T., Le Floch, S., & Thomas, H. (2023). Seasonal variations of low pesticides contamination and biomarker responses in marine bivalves from French estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 192, 114988. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114988>
- Lesser, J. S., James, W. R., Stallings, C. D., Wilson, R. M., & Nelson, J. A. (2020). Trophic niche size and overlap decreases with increasing ecosystem productivity. *Oikos*, 129(9), 1303-1313. <https://doi.org/10.1111/oik.07026>
- Leventis, P. A., & Grinstein, S. (2010). The distribution and function of phosphatidylserine in cellular membranes. *Annual review of biophysics*, 39, 407-427. <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.093008.131234>
- Li, X. P., & Sun, L. (2017). A teleost complement factor Ba possesses antimicrobial activity and inhibits bacterial infection in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 71, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.01.021>

- Limburg, K.E., Casini, M. (2019). Otolith chemistry indicates recent worsened Baltic cod condition is linked to hypoxia exposure. *Biol. Lett.* 15(12), 20190352. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2019.0352>
- Limburg, K.E., Walther, B.D., Lu, Z., Jackman, G., Mohan, J., Walther, Y., Nissling, A., Weber, P.K., Schmitt, A.K. (2015). In search of the dead zone: use of otoliths for tracking fish exposure to hypoxia. *Journal of Marine Systems.* 141, 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2014.02.014>
- Liu, F., Xie, Q., Yu, R. Q., Xie, Z., Wu, J., Zhang, X., & Wu, Y. (2023). Fatty acids as bioindicators of organohalogen exposure in marine fish from a highly polluted estuary: First insight into small-scale regional differences. *Journal of Hazardous Materials*, 452, 131337. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131337>
- Liu, Y., Chen, Q., Li, Y., Bi, L., Lin, S., Ji, H., Sun, D., Jin, L., & Peng, R. (2022). Hydrogen sulfide-induced oxidative stress mediated apoptosis via mitochondria pathway in embryo-larval stages of zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 239, 113666. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113666>
- Livingstone, D. R. (1998). The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120(1), 43-49. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10008-9](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10008-9)
- Lubbers, R., Van Essen, M. F., Van Kooten, C., & Trouw, L. A. (2017). Production of complement components by cells of the immune system. *Clinical & Experimental Immunology*, 188(2), 183-194. <https://doi.org/10.1111/cei.12952>
- Marchand, J., Quiniou, L., Riso, R., Thébault, M. T., & Laroche, J. (2004). Physiological cost of tolerance to toxicants in the European flounder *Platichthys flesus* along the French Atlantic coast. *Aquatic Toxicology*, 70(4), 327–343. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.10.001>
- Marchand, J., Tanguy, A., Charrier, G., Quiniou, L., Plee-Gauthier, E., & Laroche, J. (2006). Molecular identification and expression of differentially regulated genes of the European flounder, *Platichthys flesus*, submitted to pesticide exposure. *Marine Biotechnology*, 8(3), 275–294. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0099-3>
- Martino, J. C., Doubleday, Z. A., & Gillanders, B. M. (2019). Metabolic effects on carbon isotope biomarkers in fish. *Ecological Indicators*, 97, 10–16. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2018.10.010>
- Martyniuk, C. J. (2018). Are we closer to the vision? A proposed framework for incorporating omics into environmental assessments. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 59, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.03.005>
- Mathieu-Resuge, M., Kraffe, E., Le Grand, F., Boens, A., Bideau, A., Lluch-Cota, S.E., Racotta, I.S., Schaal, G. (2019). Trophic ecology of suspension-feeding bivalves inhabiting a north-eastern Pacific coastal lagoon: Comparison of different biomarkers. *Marine Environmental Research*, 145, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.02.016>
- McNaughton, S. A., & Marks, G. C. (2003). Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of cruciferous vegetables. *British Journal of Nutrition*, 90(3), 687-697. <https://doi.org/10.1079/BJN2003917>

- Meador, J. P., Bettcher, L. F., Ellenberger, M. C., & Senn, T. D. (2020). Metabolomic profiling for juvenile Chinook salmon exposed to contaminants of emerging concern. *Science of the Total Environment*, 747, 141097. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141097>
- Mendes, C., Ramos, S., & Bordalo, A. A. (2014). Feeding ecology of juvenile flounder *Platichthys flesus* in an estuarine nursery habitat: Influence of prey–predator interactions. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 461, 458-468. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.09.016>
- Ménesguen, A., Perrot, T., Dussauze, M. (2010). Ulva mass accumulations on brittany beaches: explanation and remedies deduced from models. *Mercator Ocean Quaterly Newsletter*, 38, 4-13.
- Merkwirth, C., & Langer, T. (2009). Prohibitin function within mitochondria: essential roles for cell proliferation and cristae morphogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1793(1), 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.05.013>
- Mew, A., Simpson, K.L., Gropman, A.L., Lanpher, B.C., Chapman, K.A., Summar, M.L. (2017). Urea Cycle Disorders Overview.
- Meziane, T., & Tsuchiya, M. (2000). Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. *Marine Ecology Progress Series*, 200, 49-57. <https://doi.org/10.3354/meps200049>
- Müller-Navarra, D. C., Brett, M. T., Park, S., Chandra, S., Ballantyne, A. P., Zorita, E., & Goldman, C. R. (2004). Unsaturated fatty acid content in seston and tropho-dynamic coupling in lakes. *Nature*, 427(6969), 69-72. <https://doi.org/10.1038/nature02210>
- Munaron, D., Derolez, V., Foucault, E., Cimiterra, N., Tapie, N., Budzinski, H., & Giraud, A. (2020). OBSLAG – Volet Pesticides : Bilan 2017–2019 du suivi des lagunes méditerranéennes. Rapport final, Convention AERMC–Ifremer 2017, N° ODE/UL/LER-LR/20.09, juillet 2020, 78 p.
- Munaron, D., Gianaroli, C., Cimiterra, N., Derolez, V., Ouisse, V., & Giraud, A. (2022). OBSLAG – Pesticides : Bilan 2020–2021 du suivi des lagunes méditerranéennes. Rapport de la Convention AERMC–Ifremer 2020, N° ODE/UL/LER-LR/22.12, août 2022, 90 p.
- Nagan, N., & Zoeller, R. A. (2001). Plasmalogens: biosynthesis and functions. *Progress in lipid research*, 40(3), 199. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00003-0)
- Niemeyer, R. J., Cheng, Y., Mao, Y., Yearsley, J. R., & Nijssen, B. (2018). A thermally stratified reservoir module for large-scale distributed stream temperature models with application in the Tennessee River basin. *Water Resources Research*, 54(10), 8103-8119. <https://doi.org/10.1029/2018WR022615>
- Nordstrom, D. K. (2002). Worldwide occurrences of arsenic in ground water. *Science*, 296(5576), 2143-2145. <https://doi.org/10.1126/science.1072375>
- Panfili, J., Darnaude, A.M., Vigliola, L., Jacquart, A., Labonne, M., Gilles, S. (2015). Experimental evidence of complex relationships between the ambient salinity and the strontium signature of fish otoliths. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 467, 65-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2015.03.007>.
- Park, J.S., Gabel, A.M., Kassir, P., Kang, L., Chowdhary, P.K., Osei-Ntansah, A., Tran, N.D., Viswanathan, S., Canales, B., Ding, P., Lee, Y.S., Brewster, R. (2022). N-myc Downstream Regulated Gene 1 (NDRG1) functions as a molecular switch for cellular adaptation to hypoxia. *Elife*, 11, e74031. <https://doi.org/10.7554/eLife.74031>

- Parrish, C. C. (2013). Lipids in marine ecosystems. *International Scholarly Research Notices*, 2013. <https://doi.org/10.5402/2013/604045>
- Paulino, M. G., Tavares, D., Terezan, A. P., Sakuragui, M. M., Pesenti, E., Giani, A., Margareth, M., Fernandes, J. B., & Fernandes, M. N. (2020). Biotransformations, antioxidant system responses, and histopathological indexes in the liver of fish exposed to cyanobacterial extract. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(5), 1041-1051. <https://doi.org/10.1002/etc.4696>
- Pédrón, N., Artigaud, S., Zambonino Infante, J. L., Le Bayon, N., Charrier, G., Pichereau, V., & Laroche, J. (2017). Proteomic responses of the European flounder to multiple stressors: differential sensitivities of peripheral vs core populations. *Science of the Total Environment*, 586, 890–899.
- Pein, J., Eisele, A., Sanders, T., Daewel, U., Stanev, E. V., van Beusekom, J. E. E., Staneva, J., & Schrum, C. (2021). Seasonal stratification and biogeochemical turnover in the freshwater reach of a partially mixed dredged estuary. *Frontiers in Marine Science*, 8, 623714. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.623714>
- Péron, M., Gonzalez, R., Hue, S., Soudant, P., Le Grand, F., Mazurais, D., Vagner, M. (2024). Spatial and ontogenetic modulation of fatty acid composition in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from two French estuaries. *Mar. Environ. Res.* 197, 106456. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2024.106456>.
- Peters, L. D., Livingstone, D. R., Shenin-Johnson, S., Hines, R. N., & Schlenk, D. (1995). Characterization of hepatic flavin monooxygenase from the marine teleost turbot (*Scophthalmus maximus L.*). *Xenobiotica*, 25(2), 121-131. <https://doi.org/10.3109/00498259509061838>
- Pickova, J., & Mørkøre, T. (2007). Alternate oils in fish feeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(3), 256-263. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600222>
- Piowar, A., & Harasym, J. (2020). The importance and prospects of the use of algae in agribusiness. *Sustainability*, 12(14), 5669. <https://doi.org/10.3390/su12145669>
- Polard, T., Jean, S., Gauthier, L., Laplanche, C., Merlina, G., Sánchez-Pérez, J. M., & Pinelli, E. (2011). Mutagenic impact on fish of runoff events in agricultural areas in south-west France. *Aquatic Toxicology*, 101(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2010.09.014>
- Porte, C., Escartín, E., García, L. M., Solé, M., & Albaigés, J. (2000). Xenobiotic metabolising enzymes and antioxidant defences in deep-sea fish: relationship with contaminant body burden. *Marine Ecology Progress Series*, 192, 259-266. <https://doi.org/10.3354/meps192259>
- Post, D. M., Layman, C. A., Arrington, D. A., Takimoto, G., Quattrochi, J., & Montana, C. G. (2007). Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia*, 152, 179-189. <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0630-x>
- Poulier, G., Lissalde, S., Charriau, A., Buzier, R., Delmas, F., Gery, K., Moreira, A., Guibaud, G., Mazzella, N. (2014). Can POCIS be used in Water Framework Directive (2000/60/EC) monitoring networks? A study focusing on pesticides in a French agricultural watershed. *Science of the Total Environment*, 497-498, 282-292. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.001>
- Pouvreau, S., Zemleni, A., Le Roy, V., Huber, M., Petton, S., Le Gall, E., Koechlin, H., & Desroy, N. (2024). REEFORREST. REstauration Ecologique des FOrmations Récifales d'huîtres plates et de leurs services EcosySTémiques – Rapport d'avancement. Ifremer. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00899/101056/>
- Prato, E., Danieli, A., Maffia, M., & Biandolino, F. (2010). Lipid and fatty acid compositions of *Mytilus galloprovincialis* cultured in the Mar Grande of Taranto (Southern Italy): feeding strategies and trophic relationships. *Zoological Studies*, 49(2), 211-219.

- Price, E. R., Bonatesta, F., McGruer, V., Schlenk, D., Roberts, A. P., & Mager, E. M. (2022). Exposure of zebrafish larvae to water accommodated fractions of weathered crude oil alters steroid hormone concentrations with minimal effect on cholesterol. *Aquatic Toxicology*, 242, 106045. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106045>
- Pucheux, N., Troise, A., Andres, S., & Thybaud, E. (2011). Contribution à l'interprétation des causes de mortalité d'animaux observée en juillet-août 2011 dans l'estuaire du Gouessant, dans la baie de Morieux. Rapport INERIS-DRC-11-109441-09134B.
- Pujol, J. (2015). Enquête : Pratiques culturelles sur les légumes 2013, Nombre de traitements phytosanitaires, Agreste Les Dossiers.
- Qin, H., Zhang, X., Xie, T., Gao, Y., Li, J., & Jia, Y. (2023). Hepatic transcriptomic analysis reveals that Hif1 α /LDHA signal is involved in the regulation of hypoxia stress in black rockfish *Sebastes schlegelii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 47, 101098. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2023.101098>
- Ramírez, B., Montero, D., Izquierdo, M., & Haroun, R. (2013). Aquafeed imprint on bogue (*Boops boops*) populations and the value of fatty acids as indicators of aquaculture-ecosystem interaction: Are we using them properly?. *Aquaculture*, 414, 294-302. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.010>
- Rao, C. R. (1964). The use and interpretation of principal component analysis in applied research. *Sankhyā: The Indian Journal of Statistics Series A*, 26(4), 329-358.
- Rapport de la Cour des comptes (2021). Evaluation de la politique publique de lutte contre la prolifération des algues vertes en Bretagne. Rapport public thématique - Synthèse - Juillet 2021 (30 pp).
- Reichenberger, S., Bach, M., Skitschak, A., & Frede, H. G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. *Science of The Total Environment*, 384(1-3), 1-35. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2007.04.046>
- Reis-Santos, P., Gillanders, B. M., Sturrock, A. M., Izzo, C., Oxman, D. S., Lueders-Dumont, J. A., Hüsey, K., Tanner, S. E., Rogers, T., Doubleday, Z. A., Andrews, A. H., Trueman, C., Brophy, D., Thiem, J.D., Baumgartner, L. J., Willmes, M., Chung, M.-T., Charapata, P., Johnson, R. C., Trumble, S., Heimbrand, Y., Limburg, K. E., & Walther, B. D. (2023). Reading the biomineralized book of life: expanding otolith biogeochemical research and applications for fisheries and ecosystem-based management. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 33(2), 411-449. <https://doi.org/10.1007/s11160-022-09720-z>
- Roberts, R. J., Agius, C., Saliba, C., Bossier, P., & Sung, Y. Y. (2010). Heat shock proteins (chaperones) in fish and shellfish and their potential role in relation to fish health: a review. *Journal of fish diseases*, 33(10), 789-801. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2010.01183.x>
- Saito, H., & Aono, H. (2014). Characteristics of lipid and fatty acid of marine gastropod *Turbo cornutus*: High levels of arachidonic and n-3 docosapentaenoic acid. *Food Chemistry*, 145, 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.011>
- Sánchez-Muros, M. J., Villacreces, S., Miranda-de la Lama, G., de Haro, C., & García-Barroso, F. (2013). Effects of chemical and handling exposure on fatty acids, oxidative stress and morphological welfare indicators in gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). *Fish physiology and biochemistry*, 39, 581-591. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9721-2>

- Schenone, N. F., Vackova, L., & Cirelli, A. F. (2011). Fish-farming water quality and environmental concerns in Argentina: a regional approach. *Aquaculture International*, 19, 855-863. <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9404-x>
- Schlenk, D. (1998). Occurrence of flavin-containing monooxygenases in non-mammalian eukaryotic organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 121(1-3), 185-195. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(98\)10060-9](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(98)10060-9)
- Sebilo, M., Mayer, B., Nicolardot, B., Pinay, G., & Mariotti, A. (2013). Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(45), 18185–18189. https://doi.org/10.1073/PNAS.1305372110/SUPPL_FILE/PNAS.201305372SI
- Shanab, S. M., Hafez, R. M., & Fouad, A. S. (2018). A review on algae and plants as potential source of arachidonic acid. *Journal of advanced research*, 11, 3-13. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.03.004>
- Sherratt, S. C., Juliano, R. A., Copland, C., Bhatt, D. L., Libby, P., & Mason, R. P. (2021). EPA and DHA containing phospholipids have contrasting effects on membrane structure. *Journal of Lipid Research*, 62. <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2021.100106>
- Skalli, A., Robin, J. H., Le Bayon, N., Le Delliou, H., & Person-Le Ruyet, J. (2006). Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues' fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 255(1-4), 223-232. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.006>
- Slaby, S., Catteau, A., Le Cor, F., Cant, A., Dufour, V., Iurétig, A., Turiès, C., Palluel, O., Bado-Nilles, A., Bonnard, M., Cardoso, O., Dauchy, X., Porcher, J.M., Banas, D. (2023). Chemical occurrence of pesticides and transformation products in two small lentic waterbodies at the head of agricultural watersheds and biological responses in caged *Gasterosteus aculeatus*. *Science of the Total Environment*, 904, 166326. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166326>
- Sokolova, I.M. (2013). Energy-limited tolerance to stress as a conceptual framework to integrate the effects of multiple stressors. *Integrative and Comparative Biology*, 53(4), 597-608. <http://dx.doi.org/10.1093/icb/ict028>.
- Sørhus, E., Incardona, J. P., Furmanek, T., Goetz, G. W., Scholz, N. L., Meier, S., Edvardsen, R. B. & Jentoft, S. (2017). Novel adverse outcome pathways revealed by chemical genetics in a developing marine fish. *elife*, 6, e20707. <https://doi.org/10.7554/eLife.20707>
- Spycher, S., Mangold, S., Doppler, T., Junghans, M., Wittmer, I., Stamm, C., & Singer, H. (2018). Pesticide risks in small streams – How to get close as possible to the stress imposed on aquatic organisms. *Environmental Science and Technology*, 52, 4526–4535. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.est.8b00077>
- Sreejai, R., & Chithra, V. S. (2016). Hydrogen Sulphide Exposure on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Fishes. *International Journal of Science and Research*, 5(6), 356-361. <http://dx.doi.org/10.21275/v5i6.NOV164040>
- Stillwell, W., & Wassall, S. R. (2003). Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chemistry and Physics of Lipids*, 126, 1–27. [https://doi.org/10.1016/S0009-3084\(03\)00101-4](https://doi.org/10.1016/S0009-3084(03)00101-4)
- Strandberg, U., Taipale, S. J., Hiltunen, M., Galloway, A. W. E., Brett, M. T., & Kankaala, P. (2015). Inferring phytoplankton community composition with a fatty acid mixing model. *Ecosphere*, 6(16), 1-18. <https://doi.org/10.1890/ES14-00382.1>

- Sun, J. L., Zhao, L. L., Wu, H., Liu, Q., Liao, L., Luo, J., Lian, W. Q., Can, C., Jin, L., Li, M. Z., & Yang, S. (2020). Acute hypoxia changes the mode of glucose and lipid utilization in the liver of the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Science of the Total Environment*, 713, 135157. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135157>
- Sun, L., Li, J., Zuo, Z., Chen, M., & Wang, C. (2013). Chronic exposure to paclobutrazol causes hepatic steatosis in male rockfish *Sebastes marmoratus* and the mechanism involved. *Aquatic toxicology*, 126, 148-153. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.11.002>
- Sunyer, J. O., Tort, L., & Lambris, J. D. (1997). Diversity of the third form of complement, C3, in fish: functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish *Sparus aurata*. *Biochemical Journal*, 326(3), 877-881. <https://doi.org/10.1042/bj3260877>
- Svanbäck, R., & Bolnick, D. I. (2007). Intraspecific competition drives increased resource use diversity within a natural population. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1611), 839-844. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.0198>
- Swanson, D., Block, R., Mousa, S. A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Advances in Nutrition*, 3, 1–7. <https://doi.org/10.3945/an.111.000893>
- Sweeting, C. J., Polunin, N. V. C., & Jennings, S. (2006). Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(4), 595-601. <https://doi.org/10.1002/rcm.2347>
- Szőcs, E., Brinke, M., Karaoglan, B., & Schäfer, R. B. (2017). Large scale risks from agricultural pesticides in small streams. *Environmental Science and Technology*, 51, 7378–7385. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.est.7b00933>
- Talbot, C., & Hole, R. (1994). Fish diets and the control of eutrophication resulting from aquaculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 10(4), 258-270. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1994.tb00165.x>
- Teichert, N., Borja, A., Chust, G., Uriarte, A., & Lepage, M. (2016). Restoring fish ecological quality in estuaries: Implication of interactive and cumulative effects among anthropogenic stressors. *Science of the Total Environment*, 542, 383–393. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.068>
- Teichert, N., Lizé, A., Tabouret, H., Roussel, J. M., Bareille, G., Trancart, T., Acou, A., Virag, L., Pécheyran, C., Carpentier, A., & Feunteun, E. (2022). European flounder foraging movements in an estuarine nursery seascape inferred from otolith microchemistry and stable isotopes. *Marine Environmental Research*, 182, 105797. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105797>
- Teichert, N., Lizé, C., Cabral, H., Acou, A., Trancart, T., Virag, L. S., Feunteun, E., & Carpentier, A. (2023). Decoupling carry-over effects from environment in fish nursery grounds. *Science of the Total Environment*, 857, 159487. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159487>
- Terrier, C., Sylvander, M., Khiati, A., & Moncere, V. (2005). Population présente : méthodes de détermination à partir des enquêtes sur les touristes.
- Thibault, M., Duprey, N., Gillikin, D. P., Thébault, J., Douillet, P., Chauvaud, L., Amice, E., Munaron, J. M., & Lorrain, A. (2020). Bivalve $\delta^{15}\text{N}$ isoscapes provide a baseline for urban nitrogen footprint at the edge of a world heritage coral reef. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110870. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110870>
- Thorrold, S.R., Shuttleworth, S. (2011). In situ analysis of trace elements and isotope ratios in fish otoliths using laser ablation sector field inductively coupled plasma mass spectrometry.

Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 57(6), 1232-1242.
<https://doi.org/10.1139/f00-054>.

- Topic Popovic, N., Cizmek, L., Babic, S., Strunjak-Perovic, I., Coz-Rakovac, R. (2023). Fish liver damage related to the wastewater treatment plant effluents. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(17), 48739-48768. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26187-y>
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Van Ginneken, V. J., Helsper, J. P., de Visser, W., van Keulen, H., & Brandenburg, W. A. (2011). Polyunsaturated fatty acids in various macroalgal species from north Atlantic and tropical seas. *Lipids in health and disease*, 10(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-104>
- Van Metre, P.C., Alvarez, D.A., Mahler, B.J., Nowell, L., Sandstrom, M., Moran, P. (2017). Complex mixtures of Pesticides in Midwest U.S. streams indicated by POCIS time-integrating samplers. *Environmental Pollution*, 220, 431-440. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.085>
- Vandegheuchte, M. B., & Janssen, C. R. (2011). Epigenetics and its implications for ecotoxicology. *Ecotoxicology*, 20(3), 607-624. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0634-0>
- Vaquer-Sunyer, R., Duarte, C.M. (2008). Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), 15452-15457. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0803833105>.
- Viaud, V., & Thomas, Z. (2019). Une réflexion sur l'état des connaissances des fonctions du bocage pour l'eau dans une perspective de mobilisation pour l'action. *Sciences Eaux & Territoires*, Numéro 30(4), 32–37. <https://doi.org/10.3917/SET.030.0032>
- Vinagre, C., Cabral, H., & Costa, M. J. (2008). Prey selection by flounder, *Platichthys flesus*, in the Douro estuary, Portugal. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(3), 238-243. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01055.x>
- Virtue, P., Mayzaud, P., Albessard, E., & Nichols, P. (2000). Use of fatty acids as dietary indicators in northern krill, *Meganyctiphanes norvegica*, from northeastern Atlantic, Kattegat, and Mediterranean waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(S3), 104-114. <https://doi.org/10.1139/f00-182>
- Weber, G., Christmann, N., Thiery, A-C., Martens, D., Kubiniok, J. (2018). Pesticides in agricultural headwater streams in southwestern Germany and effects on macroinvertebrate populations. *Science of the Total Environment*. 619-620, 638-648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.155>
- Weil, C., Lefèvre, F., Bugeon, J. (2013). Characteristics and metabolism of different adipose tissues in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 23, 157–173. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9288-0>
- Welten, R. D., Meneely, J. P., & Elliott, C. T. (2020). A comparative review of the effect of microcystin-LR on the proteome. *Exposure and Health*, 12, 111-129. <https://doi.org/10.1007/s12403-019-00303-1>
- White, A.B., Pernetta, A.P., Joyce, C.B., & Crooks, N. (2019a). Increased mortality, delayed hatching, development aberrations and reduced activity in brown trout (*Salmo trutta*) exposed to phenethyl isothiocyanate. *Water, Air & Soil Pollution*, 230(231). <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4285-8>

- White, C. A., Woodcock, S. H., Bannister, R. J., & Nichols, P. D. (2019b). Terrestrial fatty acids as tracers of finfish aquaculture waste in the marine environment. *Reviews in Aquaculture*, 11(1), 133-148. <https://doi.org/10.1111/raq.12230>
- Xie, Z., Zhang, X., Xie, Y., Wu, J., & Wu, Y. (2023). Occurrences and potential lipid-disrupting effects of phthalate metabolites in humpback dolphins from the South China Sea. *Journal of Hazardous Materials*, 441, 129939. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129939>
- Xu, E. G., Khursigara, A. J., Li, S., Esbaugh, A. J., Dasgupta, S., Volz, D. C., & Schlenk, D. (2019). mRNA-miRNA-Seq reveals neuro-cardio mechanisms of crude oil toxicity in red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Environmental science & technology*, 53(6), 3296-3305. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00150>
- Xu, E. G., Mager, E. M., Grosell, M., Pasparakis, C., Schlenker, L. S., Stieglitz, J. D., Benetti, D., Hazard, E.S., Courtney, S.M., Diamante, G., Freitas, J., Hardima, G. & Schlenk, D. (2016). Time-and oil-dependent transcriptomic and physiological responses to Deepwater Horizon oil in mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) embryos and larvae. *Environmental Science & Technology*, 50(14), 7842-7851. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02205>
- Závorka, L., Blanco, A., Chaguaceda, F., Cucherousset, J., Killen, S. S., Liénart, C., Mathieu-Resuge, M., Němec, P., Pilecky, M., Scharnweber, K., Twining, C. W., & Kainz, M. J. (2023). The role of vital dietary biomolecules in eco-evo-devo dynamics. *Trends in ecology & evolution*, 38(1), 72-84. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.08.010>
- Závorka, L., Crespel, A., Dawson, N. J., Papatheodoulou, M., Killen, S. S., & Kainz, M. J. (2021). Climate change-induced deprivation of dietary essential fatty acids can reduce growth and mitochondrial efficiency of wild juvenile salmon. *Functional Ecology*, 35(9), 1960-1971. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13860>
- Zhang, K., Fu, Q., Ge, F., Jin, X., Guo, R., Qiao, X., Zhao, X., & Zheng, X. (2019). The correlation study between fatty acids and organochlorine pesticides or $\delta^{15}\text{N}$ values in fish tissues from Dongting Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182, 109358. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.041>
- Zhang, X., Yu, R., Xie, Y., Yu, R. Q., & Wu, Y. (2022). Organotins Remain a Serious Threat to the Indo-Pacific Humpback Dolphins in the Pearl River Estuary. *Environmental Science & Technology*, 56(18), 13046-13057. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02780>
- Zimmerman, C. E. (2005). Relationship of otolith strontium-to-calcium ratios and salinity: experimental validation for juvenile salmonids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62(1), 88-97. <https://doi.org/10.1139/f04-182>
- Zimmerman, C.E. (2011). Relationship of otolith strontium-to-calcium ratios and salinity: experimental validation for juvenile salmonids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62 (1), 88–97. <https://doi.org/10.1139/F04-182>.
- Zlabek, V., & Zamaratskaia, G. (2012). Comparison of three fluorescent CYP3A substrates in two vertebrate models: pig and Atlantic salmon. *Animal*, 6(4), 633-6

14. Annexes

Comités de suivi & Présentations du projet ECOEST

SAGE Bas Léon (Kernilis) : 27 Mai 2021

Réserve Naturelle de la Baie de St Brieuc (Hillion) : 11 Juin 2021

SAGE Sud Cornouaille (Concarneau) : 25 Juin 2021

SAGE Léon Trégor (Plourin les Morlaix) : 17 Février 2022

SAGE Aulne (Chateauneuf du Faou) : 24 Mars 2022

SAGE Léon Trégor (Plouénan) : 29 Avril 2022

DDTM (Quimper) : 13 Juin 2022

SAGE Léon Trégor (Morlaix) : 15 Novembre 2022

SAGE Bas Léon (Kernilis) : 6 Décembre 2022

SAGE Aulne (Chateaulin) : 5 Janvier 2023

Réserve Naturelle de la Baie de St Brieuc (Hillion) : 11 Janvier 2023

SAGE Sud Cornouaille (Concarneau) : 6 Février 2023

SAGE Scorff (Pont Scorff) : 16 Mars 2023

SAGE Léon Trégor (Morlaix) : 7 Avril 2023

SAGE Léon Trégor (Plouénan + Morlaix) : 10 Mai 2023

SAGE Bas Léon (Kernilis) : 15 Juin 2023

SAGE Bas Léon (Kernilis) : 5 Février 2024

SAGE Léon Trégor (Plourin les Morlaix) : 17 Octobre 2024

SAGE Aulne (Gouezec) : 12 Juin 2024

APPCB (Morlaix) : 7 Novembre 2024

Projet ECOEST : Production scientifique & Communications scientifiques

Thèse de doctorat

Laurent J (2023). « Ecologie du stress et qualité écologique de l'estuaire de Seine et des fleuves côtiers bretons : signatures environnementales et moléculaires chez une espèce sentinelle, le Flet (*Platichthys flesus*) ». Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale. 306p.

<https://theses.hal.science/tel-04606844v1>

Publications internationales

Laurent J, Le Berre I, Armengaud J, Kailasam S, Couteau J, Waeles M, Le Floch S, Laroche J, Pichereau M (2023). Integration of environmental signatures and omics-based approaches on the European flounder to assist with health assessment of estuarine ecosystems in Brittany, France. *Science of the Total Environment*. 878: 163195.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163195>

Laurent J, Le Berre I, Armengaud J, Waeles M, Sturbois A, Durand G, Le Floch S, Laroche J, Pichereau V (2024). Environmental signatures and fish proteomics: a multidisciplinary study to identify the major stressors in estuaries located in French agricultural watersheds. *Environmental Pollution*. 363: 124876.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124876>

Laurent J, Le Grand F, Bideau A, Le Berre I, Le Floch S, Pichereau V., Laroche J (2025). Fatty acid analysis in an estuarine fish species to assess the health status of hydrosystems impacted by eutrophication and multistressors. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 319: 109279.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2025.109279>

Communications en Colloques

Laurent J, Laroche J, Pichereau V, Le Floch S. "Coupling environmental signatures and -omics tools on the European flounder (*Platichthys flesus*) to assess estuarine environmental health in an agricultural region (Brittany, France)". Chemical Contamination of Marine Ecosystems PRIMO 22, 26-29 May 2024, Nantes.

Laroche J, Laurent J, Pichereau V, Le Berre I, Le Floch S. "Diagnostic de l'état de santé des fleuves côtiers bretons, en combinant : géographie des bassins versants, chimie des polluants et réponses du poisson ». Colloque Régional, organisé par l'APPCB (Assemblée Permanente des Présidents des commissions locales de l'eau de Bretagne) et par le SAGE Léon-Trégor. 7 Novembre 2024, CCI de Morlaix.