

Université d'Angers
Structure d'accueil Faculté des Sciences
2/11 boulevard Lavoisier
Adresse
49045 Angers

L'influence de l'atlantification sur la biodiversité des mers du nord

Rapport de stage de Master 1 BEE Parcours : Mer Anthropisation Diagnostic

Présenté par Sarah Germain

Encadré par Joanna Pawlowska

Enseignant tuteur : Magali Schweizer

Fait à L'Institute of Oceanology Polish Academy of Science du 2 avril 2024 au 28 mai 2024

Promotion : 2023/2024



Université d'Angers Faculté des Sciences 2 boulevard Lavoisier 49045 Angers Cedex	Master 1 Biodiversité Ecologie-Evolution Parcours Mer Anthropisation Diagnostic
Type de stage : Stage de type 1	
Sarah Germain	IOPAN
Année Universitaire 2023-2024	Joanna Pawlowska

L'influence de L'Atlantification sur la biodiversité des mers du nord

Résumé : L'atlantification est un phénomène d'afflux croissant d'eaux chaudes de l'Atlantique vers les hautes latitudes. Ce phénomène perturbe les écosystèmes marins et entraîne des modifications de la biodiversité, de la complexité des réseaux alimentaires et de la productivité primaire. Toutefois, l'atlantification n'est pas un phénomène récent : elle s'est déjà produite à des périodes antérieures de l'histoire de la Terre, notamment au cours de l'Holocène. Au début de l'Holocène, la Terre a connu un épisode de réchauffement assez important. Cet épisode est enregistré dans le registre fossile, notamment dans les traces des organismes qui y ont vécu pendant cette période. L'une de ces traces est constituée par les restes d'organismes, appelés microfossiles. Cependant, seuls quelques groupes de microorganismes, ceux qui ont un squelette dur, sont conservés dans les archives fossiles. L'étude du sedaDNA (l'ADN ancien conservé dans les sédiments) est une nouvelle façon d'étudier la biodiversité passée. L'ADN peut être conservé dans les sédiments après la mort d'un organisme, ce qui constitue une archive inestimable de presque tout ce qui y vivait dans le passé. Grâce à l'analyse de l'ADN ancien, il est possible de reconstituer les communautés biologiques du passé et de voir dans quelle mesure les changements climatiques, en particulier l'atlantification, ont pu avoir un impact sur ces communautés.

Mots clés : SedaDNA, Atlantification, Holocène, Metabarcoding, changement climatique

Abstract: Atlantification is a phenomenon of increasing inflow of warm Atlantic water towards the high latitudes. This leads to a disruption of marine ecosystems, including changes in biodiversity, food webs complexity, and primary productivity. However, atlantification is not a recent phenomenon: it has already occurred during earlier periods in the Earth's history, notably during the Holocene. At the beginning of the Holocene, the Earth experienced a significant warming episode. This episode is recorded in the fossil record, particularly in the traces of the organisms that lived there during this period. One of the traces is the morphological remains of organisms called microfossils. However, only a few microbial groups, those with hard skeletons, are preserved within the fossil record. The novel way to study past biodiversity is the study of sedaDNA (the ancient DNA preserved in sediment). DNA from an organism can be preserved in sediment after its death, providing an invaluable archive of almost everything that has been living there in the past. The analysis of ancient DNA makes possible to reconstruct biological communities from the geological past, and allows to see the extent in which climate change, particularly atlantification, might have had an impact on these communities.

Key words: SedaDNA, Atlantification, Holocene, metabarcoding, climate change

Engagement de non-plagiat

Je, soussigné(e), Sarah Germain.....

déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Nom-Prénom : Germain-Sarah.....

Cet engagement de non-plagiat doit être inséré en première page de tous les rapports, dossiers, mémoires.

Remerciements : Je voudrais remercier toutes les personnes de l'équipe de paléoenvironnement pour leur aide et leur bonne humeur. Merci à Loi Ngyuen pour son aide en traitement de données et son expertise. Merci à Justyna Falkowska et Katarzyna Melaniuk pour leurs savoirs dans le laboratoire et leur bonne humeur. Merci également de m'avoir donné des conseils pour mon traitement de données. Merci à toute l'équipe pour leur accueil et leur intégration au sein de l'équipe. Et enfin merci à Joanna Pawłowska de m'avoir prise en stage, de m'avoir formé, et de m'avoir aidé durant tout mon stage et durant la rédaction de ce rapport.

Table des matières :

Introduction.....	1
Matériel et méthode	1
Résultats	3
Discussion.....	4
Bibliographie.....	6

Listes des figures et des tableaux

Figure 1.....	2
Figure 2.....	3
Figure 3.....	4
Figure 4.....	5

Préambule :

L'IOPAN (Institute of Oceanology Polish Academy of Sciences) est un institut spécialisé dans l'étude du milieu marin. L'unité où j'ai fait mon stage est spécialisée dans la reconstruction du paléoenvironnement, plus particulièrement sur la reconstruction grâce au sedaDNA. Mon stage fait partie du projet LEAD (AtLantification of the European Arctic across geological times: new insights from sEdimentary Ancient DNA) qui a pour objectif de comprendre comment l'atlantification impacte la biodiversité Arctique. Les données traitées dans ce rapport proviennent d'une carotte récoltée lors d'une mission associée à ce projet, tout comme la carotte que j'ai utilisé pour les manipulations. Les données de datation de la carotte ont été réalisées par Dhanushka Devendra.

Introduction

L'atlantification (ou boréalisatation) est le processus par lequel l'eau chaude de l'Atlantique se déverse en très grande quantité dans les eaux froides du Nord en à cause d'un réchauffement climatique (Polyakov IV et al., 2017). Ce phénomène est très étudié ces dernières années (Absjornsen H et al. Csapo HK et al., 2021 ; 2020, Polyakov IV et al., 2017) car il a un fort impact sur les écosystèmes nordiques. En effet, l'atlantification participe à la fonte des glaces, modifie les communautés de phytoplanctons en créant beaucoup de matière organique (Csapo HK et al, 2021) et mélange les couches d'eau de l'océan (Polyakov IV et al, 2017). Cela modifie également les communautés qui vivent dans ces eaux-là, provoquant l'apparition de nouvelles espèces.

L'Holocène est une période qui a débuté il y a 12 000 ans (Risebrobakken B et al., 2003). Cette période correspond à un fort réchauffement climatique avec la fonte des glaces des pôles. Ce changement climatique a été largement étudié (Risebrobakken B et al. ,2003 ; Ramusen TL et al., 2011 ; Telesiński MM et al., 2015 ; Rasmussen & Thomsen, 2010 ; Telesiński MM et al., 2022) car il a eu un certain impact sur la biodiversité marine.

Parmi les zones les plus impactées par l'Atlantification se trouvent les mers du Nord. En effet, c'est ici que se rencontrent les courants d'eaux chaudes de l'Atlantique et les courants d'eau froide de la fonte des glaces (Blindheim J & Osterhus S, 2005). Il y a dans cette zone des endroits qui sont plus ou moins impactés. Par exemple, les îles Jan Mayen sont une zone très intéressante à étudier car les eaux Atlantiques et les eaux polaires y passent simultanément (Blindheim J et Osterhus S,2005). Un changement dans cet équilibre pourrait fortement impacter les communautés qui s'y trouve.

Pour comprendre notre futur, il faut pouvoir comprendre notre passé. Il existe de nombreux proxys qui permettent d'accomplir cela (Nguyen NL et al, 2023). L'une des techniques qui est de plus en plus utilisée est le sedaDNA. Le principe de cette méthode est d'analyser l'ADN présent dans le sédiment pour pouvoir reconstruire les communautés qui s'y trouvent (Nguyen NL et al, 2023). On peut reconstruire les communautés actuelles, mais il est également possible de remonter dans le temps en analysant l'ADN présent plus profondément dans une carotte.

Au vu des changements de température durant ces dernières décennies, il est intéressant de regarder comment ont évolué les communautés des mers du Nords au cours du temps et comment ces évolutions sont corrélées aux changements de l'environnement. Pour se faire, l'outil sedaDNA est totalement adapté. Cette étude sera donc portée sur l'analyse des communautés vivant au large des îles Jan Mayen et des îles Féroé, durant ces 13 000 dernières années grâce au sedaDNA. Nous allons observer l'évolution de ces communautés au cours du temps et comment elles ont fait face aux différents changements climatiques qu'il y a eu dans cette zone.

Matériel et méthode

Les analyses portent sur deux sites différents, d'une part les îles Féroé au sud de la mer du Nord, et d'autre part les îles Jan Mayen au centre de la mer du Nord. Il y a deux sites d'études car les manipulations ont été faite sur les échantillons des îles Féroé mais par manque de temps il a été décidé d'analyser les résultats sur les échantillons des îles Jan Mayen (les mêmes manipulations ont été effectuées sur les deux sites d'études).

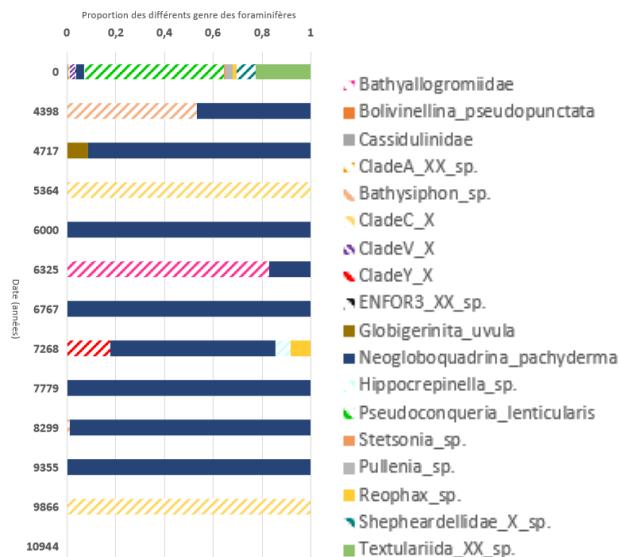


Figure 1: fluctuation des genres de foraminifères au cours du temps. Les Monothalamea sont en hachuré et les Globothalamea sont en uni.

échantillons contenant de très faibles quantités d'ADN, sa précipitation permet de s'assurer d'en récupérer l'intégralité.

La prochaine étape fut la préparation de la PCR. Nous avons d'abord préparé la solution qui permettra à la PCR de bien se dérouler. Pour un échantillon, nous avons utilisé une solution composée de 15,8 µl d'eau pure stérile, de 2,5 µl d'AmpliTaq Gold Buffer (concentré 10 fois), de 1,5 µl de MgCl₂, de 0,5 µl de BSA (concentré à 20mg/ml), de 0,5 µl de dNTPs (concentré à 10mM), et de 0,2 µl d'AmpliTaq Gold DNA polymerase (concentré à 5U/µl). Ces quantités sont multipliées par le nombre d'échantillons à réaliser.

Nous avons utilisé une technique de métabarcoding, avec le marqueur SSU V9 pour avoir au final seulement l'ADN des eucaryotes pour la carotte des îles Féroé. Pour l'île Jan Mayen, le marqueur SSU rDNA 37f pour l'analyse des foraminifères a aussi été utilisé. Les amores ont été marqués par une séquence de 8 nucléotides à leur extrémité 5'.

Pour chaque échantillon, une combinaison unique de primer a été réalisée. Une fois cela fait, on ajoute au mélange 2 µl de la solution de primer et 2 µl d'ADN. Cela est effectué pour chaque échantillon et mis sur une plaque.

Toutes ces étapes ont été réalisées dans un environnement stérile, dans un laboratoire spécialisé dans l'analyse d'ADN sédimentaire ancien.

Cette plaque est ensuite mise dans un appareil à PCR pour 50 cycles. Pour chaque échantillon, trois réplicas ont été faits et un contrôle.

Une fois la PCR terminée, chaque échantillon a été mis sur un gel d'agarose, pour vérifier qu'il contient de l'ADN et pour vérifier que les contrôles sont bien négatifs (i.e., qu'il n'y a pas eu de contamination). Pour pouvoir lire les bandes, la solution SYBR Safe DNA gel stain a été ajoutée. Le gel est ensuite passé dans une machine qui permettra de lire la présence des bandes.

L'étape finale est la purification. Cette étape est faite à l'aide du Clean-Up kit (A&A biotechnology). Pour finir, les échantillons ont été quantifiés grâce au fluorimètre Quantus

Une carotte a été prélevée sur chaque site. Elle a ensuite été découpée en deux dans le sens de la longueur dans un environnement stérile, puis découpée en tranches d'un centimètre d'épaisseur. Une partie a été utilisé pour l'analyse par sedaDNA.

Pour l'analyse par SedaDNA, la première étape a été l'extraction de l'ADN du sédiment. L'ADN a été extrait avec approximativement 10 g de sédiments, prélevé tous les deux centimètres d'intervalles dans la carotte, un contrôle a également été fait lors de chaque extraction, la procédure a été effectuée mais sans ajouter de sédiment. Pour se faire, un kit d'extraction de la marque QIAGEN a été utilisé. La deuxième étape fut la précipitation de l'ADN. Les

(Promega) et regroupés de manière équimolaire. Les échantillons ont été envoyé à une société et ont été séquencés grâce à l'instrument Illumina NOvaSeq6000.

Une fois le séquençage terminé les données sont analysées grâce à une pipeline du nom de SLIM (Dufresne et al., 2019). Les analyses sont composées de démultiplication des échantillons, un filtrage de qualité, une suppression des chimères, et un regroupement en Amplicon Sequence Variants (ASV's). Les ASV's ont été assigné grâce à la base de données PR2 pour les eucaryotes et une base de données locale pour les foraminifères.

Pour finaliser l'analyse, le logiciel R a été utilisé. Les figues ont été produites sur Excel à partir des données générées par R.

Résultats

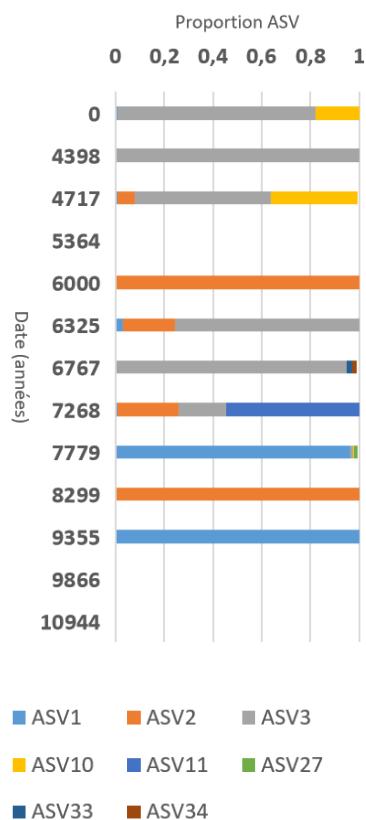


Figure 2: Fluctuation des ASV de *Neogloboquadrina pachyderma* au cours du temps

BP. L'ASV2 lui est majoritaire en 8299 et 6000 cal yr BP. L'ASV 11 est majoritaire en 7779 cal yr BP même s'il y a quand même une part importante de l'ASV 2 et 3.

Le deuxième marqueur analysé est le marqueur V9. Au début de cette analyse la base de données était composée de 5100 ASV et de 3 881 256 séquences. La base de données finale était composée de 4866 ASV et de 2 492 247 séquences.

La première étude réalisée avec ce marqueur fut la comparaison de la proportion entre les radiolaires et les organismes chloroplastiques par rapport au total des séquences au cours du temps (figure 3). Les organismes chloroplastiques sont majoritaires de 6000 à 13 572 cal yr BP même si leur abondance n'est pas la même au cours du temps. Les radiolaires eux sont plus présents à 5040 cal yr BP, et on les retrouve en même nombre que les organismes

La carotte des îles Jan Mayen a été datée par une personne extérieure. Cette datation révèle que les échantillons remontent jusqu'au début de l'Holocène.

Le premier marqueur analysé est le 37F. Au début de cette analyse, la base de données était composée de 185 ASV et de 2 321 319 séquences. Après le filtrage de qualité et la suppression des ASV rares, la base de données était composée de 177 ASV et de 2 310 763 séquences.

La première analyse porte sur la fluctuation des différents genres de foraminifères au cours du temps (Figure 1). La plus forte diversité se trouve en 0, avec 10 genres différents. Il n'y a aucun genre de foraminifères dans l'échantillon daté en 10944 cal yr BP car cet échantillon est uniquement composé d'espèces indéterminées. L'espèce la plus présente est *Neogloboquadrina pachyderma*. Elle est majoritaire de 9355 à 6767 cal yr BP. Elle est également majoritaire dans l'échantillon daté à 6000 cal yr BP. Le deuxième genre le plus présent est le Clade C_X qui est un genre de *Monothalamea*. L'espèce principale qui le compose est *Hippocrepinella alba*. Il est majoritaire dans l'échantillon daté à 9866 cal yr BP et celui daté à 5354 cal yr BP.

Il y a également un schéma clair dans la variabilité intragénomique de *Neogloboquadrina pachyderma* (figure 2). L'ASV le plus présent au cours du temps est l'ASV3 qui est majoritaire de 6767 à 6325 cal yr BP et de 4717 cal yr BP à de nos jours. L'ASV1 est majoritaire en 9355 et 7779 cal yr

chloroplastiques dans les échantillons datés à 4717 et 5040 cal yr BP. La plus faible abondance de ces deux groupes se retrouve à partir de 10944 cal yr BP et entre 6000 et 6325 cal yr BP.

La deuxième étude réalisée est celle sur l'analyse des communautés de phytoplanctons avec la fluctuation de cette dernière au cours du temps (figure 4). Le groupe le plus présent au cours du temps est le groupe des Chaetoceraceae, il a commencé à se développer en 10944 cal yr BP. Il y a aussi l'apparition des Chrysocromulinaceae en 9355 cal yr BP, puis leur diminution (qui atteint le minimum en 8299 cal yr BP) puis de nouveau leur augmentation. Après 8299 cal yr BP il y a un développement des Wanabae avec un pic en 6325 cal yr BP puis une réduction de ces derniers jusqu'à 4087 cal yr BP. Il y a également le développement des Dinophyceae qui étaient présent avant 10 000 cal yr BP et que l'on retrouve en 5680 et 4087 cal yr BP. Le groupe des Thalassiosiracea était très présent avant 10944 cal yr BP mais disparaît après. La plus forte diversité se trouve en 12753 cal yr BP avec 12 groupes différents à plus d'un pourcent de présence.

Finalement, un changement de communauté est observé entre 13572 et 10 944 cal yr BP.

Discussion

La fluctuation des genres de foraminifères au cours du temps est très aléatoire et ne montre pas de corrélation avec les changements environnementaux. En revanche, l'espèce que l'on retrouve le plus est *Neogloboquadrina pachyderma*. Les ASV de cette espèce ont déjà été

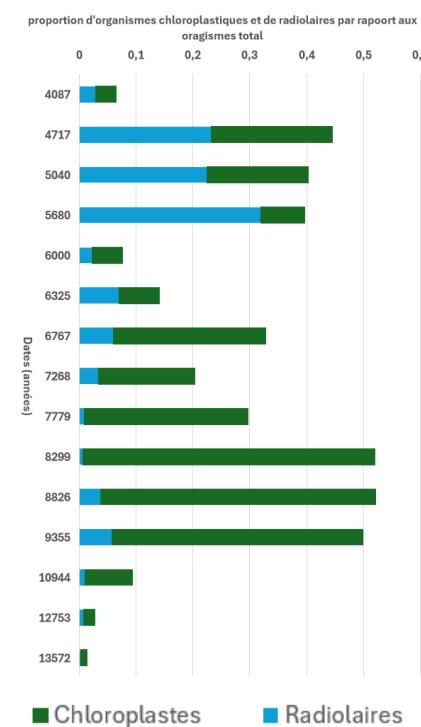


Figure 3: Fluctuation de la proportion des organismes chloroplastiques (vert) et des radiolaires (bleu) par rapport au total d'organismes au cours du temps.

événements de refroidissement de 8.2 ka et 6ka peuvent être indiqué grâce aux Chrysocromulinaceae, qui sont un genre qui vit dans des eaux oligotrophes avec un océan ouvert (Not et al, 2012). En effet, il y a une diminution importante de ce genre durant ces deux périodes.

utilisés pour avoir des informations sur l'écologie d'un milieu (Pawlowska J et al, 2020). Les majorités d'ASV 2 correspondent à deux périodes de refroidissement durant l'Holocène, 8.2 ka et 6 ka (Telesinski MM et al, 2022 ; Risebrobakken B et al, 2003). L'ASV3 correspond à des périodes de réchauffement (Telesinski MM et al, 2015). Cela confirme les suggestions précédentes selon lesquelles la variabilité des foraminifères à des niveaux génétiques assez précis (ie variabilité intra-spécifique) peut être un indicateur précieux des changements paléoenvironnementaux.

Les changements dans les communautés de phytoplanctons reflètent également les variabilités climatiques et environnementales durant l'Holocène. En effet, les Chaetoceraceae sont des indicateurs d'environnement avec une forte productivité et oligotrophe avec une arrivée d'eau moins salée (Cremer H, 1999). La période où ce genre apparaît correspond au maximum de température de l'Holocène (Ramussen TL et Thomsen E, 2010). Les glaciers fondent en apportant avec eux une eau douce et concentrée en nutriment, permettant le développement du phytoplancton. Avant cette période, l'environnement était froid comme peut en témoigner la présence de Thalassiosiracea qui est un genre qui vit dans des eaux froides (Zimmermann HH et al, 2020). Les

Finalement, la présence de radiolaires nous indique une période de réchauffement. En effet, les radiolaires indiquent la présence d'un océan ouvert (Suzuki N et Not F, 2015), cela correspond aux données de reconstruction climatique disponibles (Telesinski MM et al, 2022).

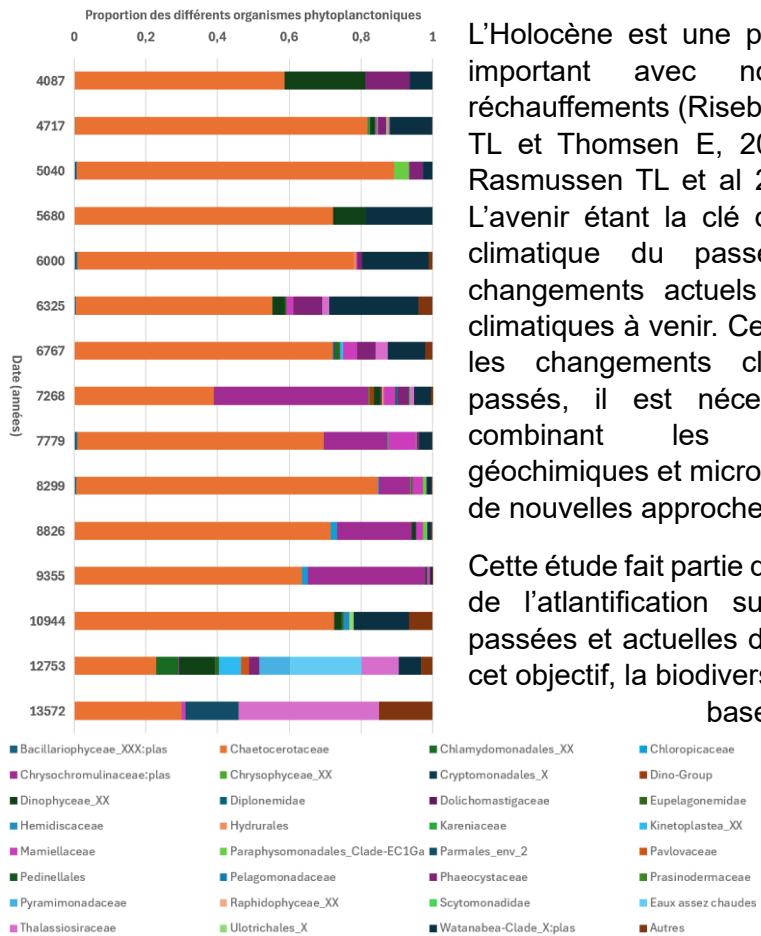


Figure 4: Fluctuation au cours du temps de la proportion des groupes de la communauté de phytoplanctons

L'Holocène est une période de changement climatique important avec notamment des épisodes de réchauffements (Risebrobakken et al., 2003 ; Rasmussen TL et Thomsen E, 2010 ; Telesinski MM et al, 2015 ; Rasmussen TL et al 2011 ; Telesinski MM et al, 2022). L'avenir étant la clé du passé, l'étude de la variabilité climatique du passé permet de comprendre les changements actuels et de prévoir les changements climatiques à venir. Cependant, pour explorer pleinement les changements climatiques et environnementaux passés, il est nécessaire d'avoir plusieurs proxys, combinant les analyses sédimentologiques, géochimiques et microfossiles classiques tout en ajoutant de nouvelles approches, telles que le sedaDNA.

Cette étude fait partie d'un projet visant à analyser l'impact de l'atlantification sur les communautés biologiques passées et actuelles des mers nordiques. Pour atteindre cet objectif, la biodiversité marine sera reconstituée sur la base du sedaDNA. D'autres

paramètres environnementaux, tels que la température, la couche de glace, ou la productivité, seront reconstitués sur la base de l'analyse de la granulométrie des sédiments, des isotopes stables dans les tests de foraminifères, de la teneur en carbone des

sédiments et des biomarqueurs tels que l'IP25. Les résultats présents montrent que le métabarcoding du sedaDNA est un outil puissant pour évaluer la biodiversité marine passée et présente. Cependant, la génération et l'interprétation des données de métabarcoding peuvent encore être améliorées. Une attention particulière devrait être accordée à l'amélioration des bases de données de référence, notamment en ce qui concerne les microeucaryotes, dont la diversité est largement inexplorée. Dans l'ensemble, les résultats de ce projet constituent une base de référence pour les futures études basées sur le sedaDNA concernant la biodiversité moderne et passée dans les mers du nord.

Bibliographie

- Asbjørnsen, H., Årthun, M., Skagseth, Ø., & Eldevik, T. (2020). Mechanisms Underlying Recent Arctic Atlantification. *Geophysical Research Letters*, 47(15), e2020GL088036.
- Blindheim, J., & Osterhus, S. (2005). The Nordic Sea, Main Oceanographic Features. In *The Nordic Seas : An Integrated Perspective*. *Geophysical Monograph* 158.
- Csapó, H. K., Grabowski, M., & Węsławski, J. M. (2021). Coming home—Boreal ecosystem claims Atlantic sector of the Arctic. *Science of The Total Environment*, 771, 144817.
- Dufresne, Y., Lejzerowicz, F., Perret-Gentil, L. A., Pawłowski, J., & Cordier, T. (2019). SLIM : A flexible web application for the reproducible processing of environmental DNA metabarcoding data. *BMC Bioinformatics*, 20(1), 88.
- Nguyen, N.-L., Devendra, D., Szymańska, N., Greco, M., Angeles, I. B., Weiner, A. K. M., Ray, J. L., Cordier, T., De Schepper, S., Pawłowski, J., & Pawłowska, J. (2023). Sedimentary ancient DNA : A new paleogenomic tool for reconstructing the history of marine ecosystems. *Frontiers*.
- Not, F., Siano, R., Kooistra, W. H. C. F., Simon, N., Vaulot, D., & Probert, I. (2012). Chapter One—Diversity and Ecology of Eukaryotic Marine Phytoplankton. In G. Piganeau (Éd.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 64, p. 1-53). Academic Press.
- Pawłowska, J., Wollenburg, J. E., Zajączkowski, M., & Pawłowski, J. (2020). Planktonic foraminifera genomic variations reflect paleoceanographic changes in the Arctic : Evidence from sedimentary ancient DNA. *Scientific Reports*, 10(1), 15102. *in Marine Science*, 10.
- Polyakov, I. V., Pnyushkov, A. V., Alkire, M. B., Ashik, I. M., Baumann, T. M., Carmack, E. C., Gosczko, I., Guthrie, J., Ivanov, V. V., Kanzow, T., Krishfield, R., Kwok, R., Sundfjord, A., Morison, J., Rember, R., & Yulin, A. (2017). Greater role for Atlantic inflows on sea-ice loss in the Eurasian Basin of the Arctic Ocean. *Science*, 356(6335), 285-291.
- Rasmussen, T. L., Thomsen, E., Nielsen, T., & Wastegård, S. (2011). Atlantic surface water inflow to the Nordic seas during the Pleistocene–Holocene transition (mid–late Younger Dryas and Pre-Boreal periods, 12 450–10 000 a BP). *Journal of Quaternary Science*, 26(7), 723-733.
- Rasmussen, T. L., & Thomsen, E. (2010). Holocene temperature and salinity variability of the Atlantic Water inflow to the Nordic seas. *The Holocene*, 20(8), 1223-1234.
- Risebrobakken, B., Jansen, E., Andersson, C., Mjelde, E., & Hevrøy, K. (2003). A high-resolution study of Holocene paleoclimatic and paleoceanographic changes in the Nordic Seas. *Paleoceanography*, 18(1).

Suzuki, N., & Not, F. (2015). Biology and Ecology of Radiolaria. In S. Ohtsuka, T. Suzuki, T. Horiguchi, N. Suzuki, & F. Not (Éds.), *Marine Protists : Diversity and Dynamics* (p. 179-222). Springer Japan.

Telesiński, M. M., Bauch, H. A., Spielhagen, R. F., & Kandiano, E. S. (2015). Evolution of the central Nordic Seas over the last 20 thousand years. *Quaternary Science Reviews*, 121, 98-109.

Telesiński, M. M., Łącka, M., Kujawa, A., & Zajączkowski, M. (2022). The significance of Atlantic Water routing in the Nordic Seas : The Holocene perspective. *The Holocene*, 32(10), 1104-1116.