

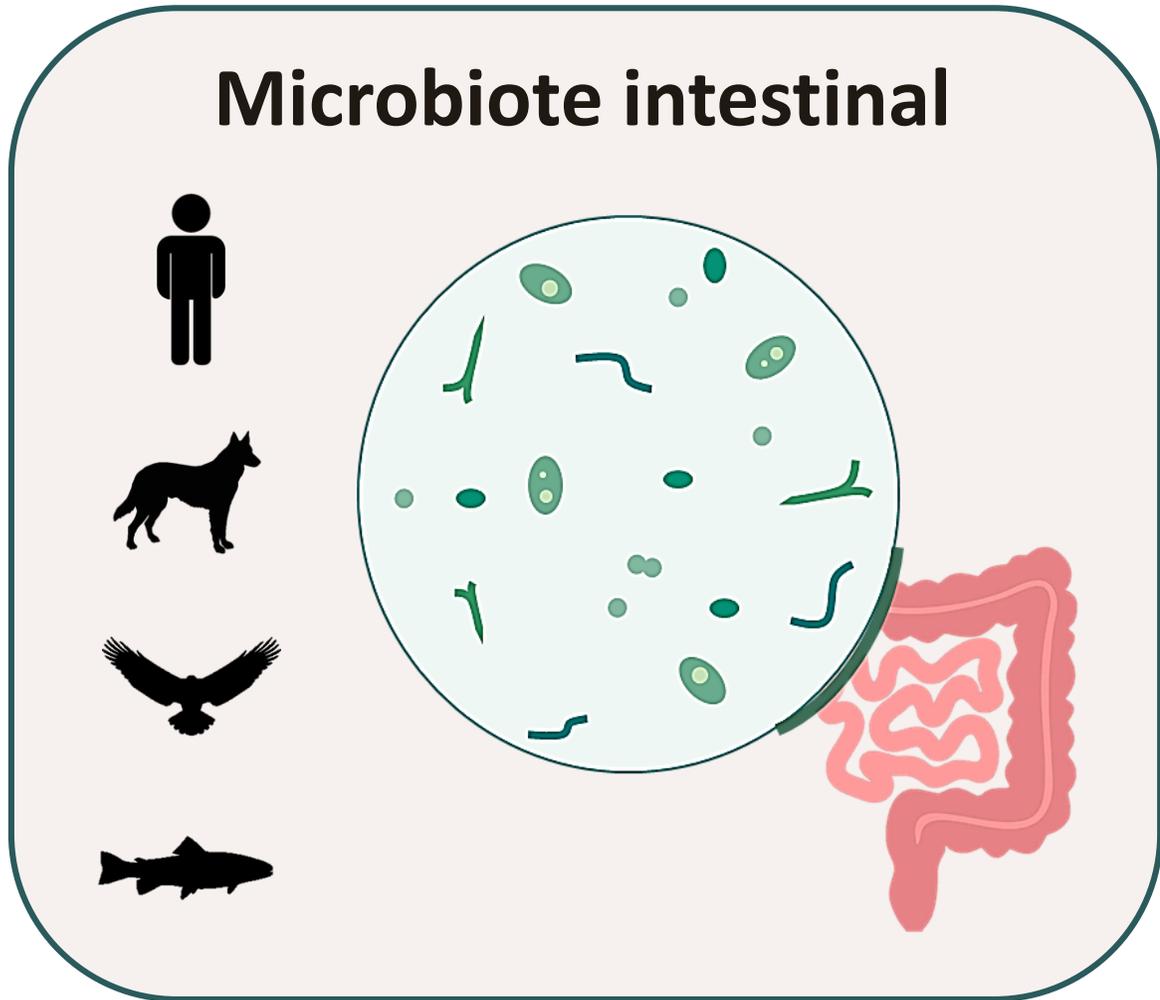


Les pesticides du milieu rural influencent-ils le microbiote intestinal d'un rapace, le busard cendré ?

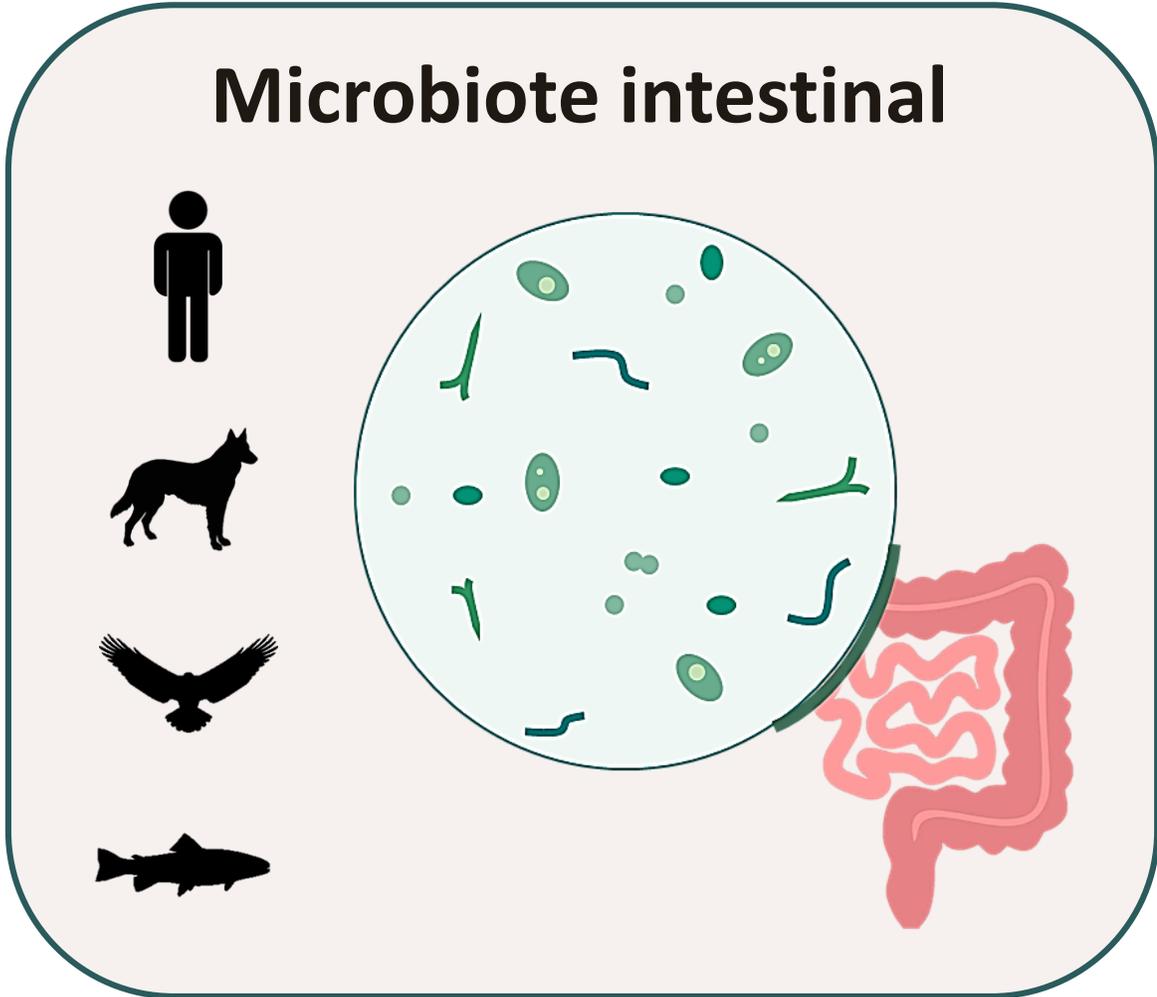


Léa Bariod, Marie-Amélie Pussacq-Caillet, Elva Fuentes, Maurice Millet, Joël White, Jérôme Moreau, Karine Monceau

Contexte de l'étude



Microbiote intestinal

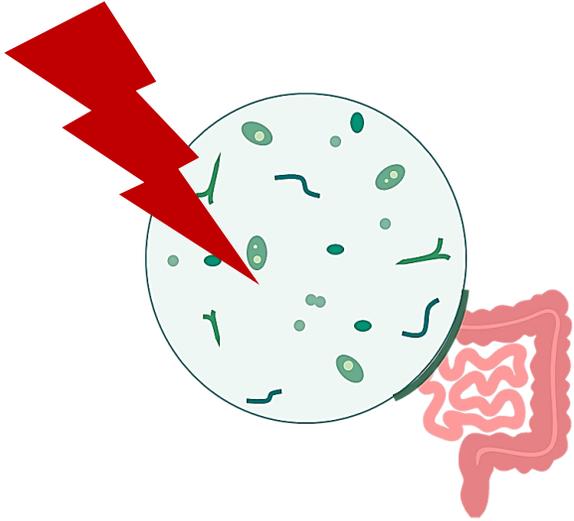


Plusieurs fonctions physiologiques :

- Digestion
- Immunité
- Détoxification (ex. métaux lourds)

Contexte de l'étude

Perturbation du microbiote



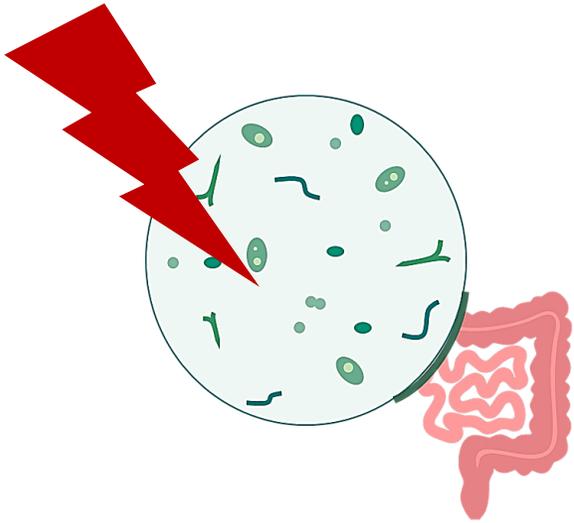
Par :

Facteurs
environnementaux

Facteurs
génétiques

Contexte de l'étude

Perturbation du microbiote



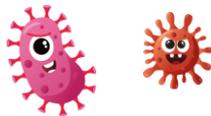
Par :

Facteurs
environnementaux

Facteurs
génétiques

Conséquences sur la **santé des hôtes (Dysbiose) :**

Augmentation d'**infections**



Prolifération **pathobiontes
nocifs**



Développement de
maladies inflammatoires

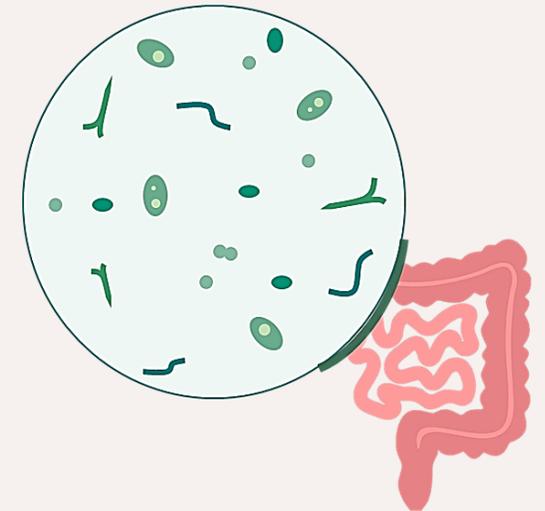
Contexte de l'étude

Parmi ces facteurs perturbateurs

Pesticides



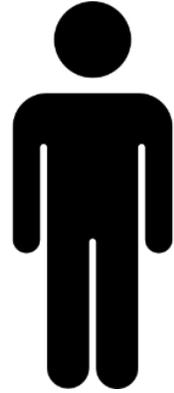
Microbiote intestinal



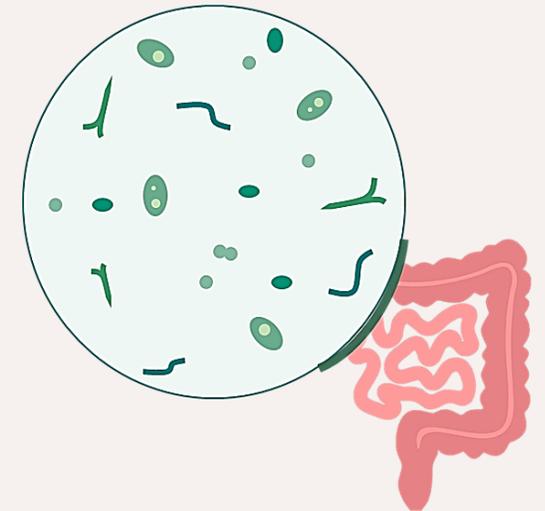
Contexte de l'étude

Parmi ces facteurs perturbateurs

Pesticides



Microbiote intestinal



- Diminution diversité/richeesse microbienne
- Augmentation des bactéries pathogènes

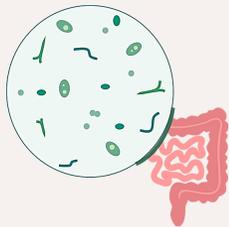
Contexte de l'étude

Manque d'étude en milieu sauvage

**Cocktail de pesticides
dans l'environnement**



**Captivité influence le
microbiote**



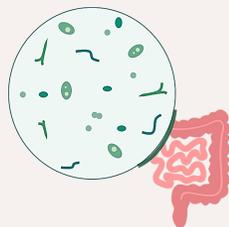
Contexte de l'étude

Manque d'étude en milieu sauvage

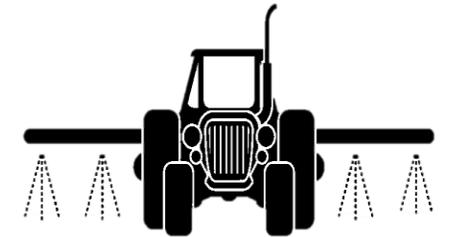
Cocktail de pesticides dans l'environnement



Captivité influence le microbiote



Oiseaux sauvages spécialistes du milieu agricole



Déclin de leurs populations ces dernières années

Objectif & prédictions



© BOUSSAC Landry

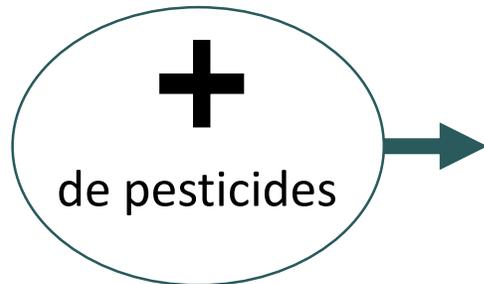
Comprendre la relation entre le **microbiote intestinal** et la **charge en pesticides** chez le **Busard cendré**

Objectif & prédictions



Comprendre la relation entre le **microbiote intestinal** et la **charge en pesticides** chez le **Busard cendré**

Modification de la composition du microbiote en fonction de la charge en pesticides



Moins de richesse microbienne

Communautés microbiennes plus hétérogènes

↳ Favorise des bactéries pathogènes

Matériels & méthodes

Busard cendré (*Circus pygargus*)



Matériels & méthodes

Busard cendré (*Circus pygargus*)



Matériels & méthodes

Busard cendré (*Circus pygargus*)



22 poussins de 13 nids en 2022

Masse corporelle
Longueur des tarse) → Condition corporelle

Lavement cloacal
Échantillon de sang

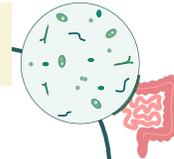


Matériels & méthodes

Analyses



Analyse du microbiote



Séquençage à haut débit
de l'ARN ribosomal 16S



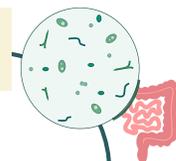
Identification d'Unités
Taxonomiques
Opérationnelles
Moléculaires (MOTUs)

Matériels & méthodes

Analyses



Analyse du microbiote



Séquençage à haut débit
de l'ARN ribosomal 16S



Identification d'Unités
Taxonomiques
Opérationnelles
Moléculaires (MOTUs)



Dosage des pesticides

LC-MS/MS &
ATD-GC-MS/MS



116 composés
recherchés par analyse
multi-résiduelle

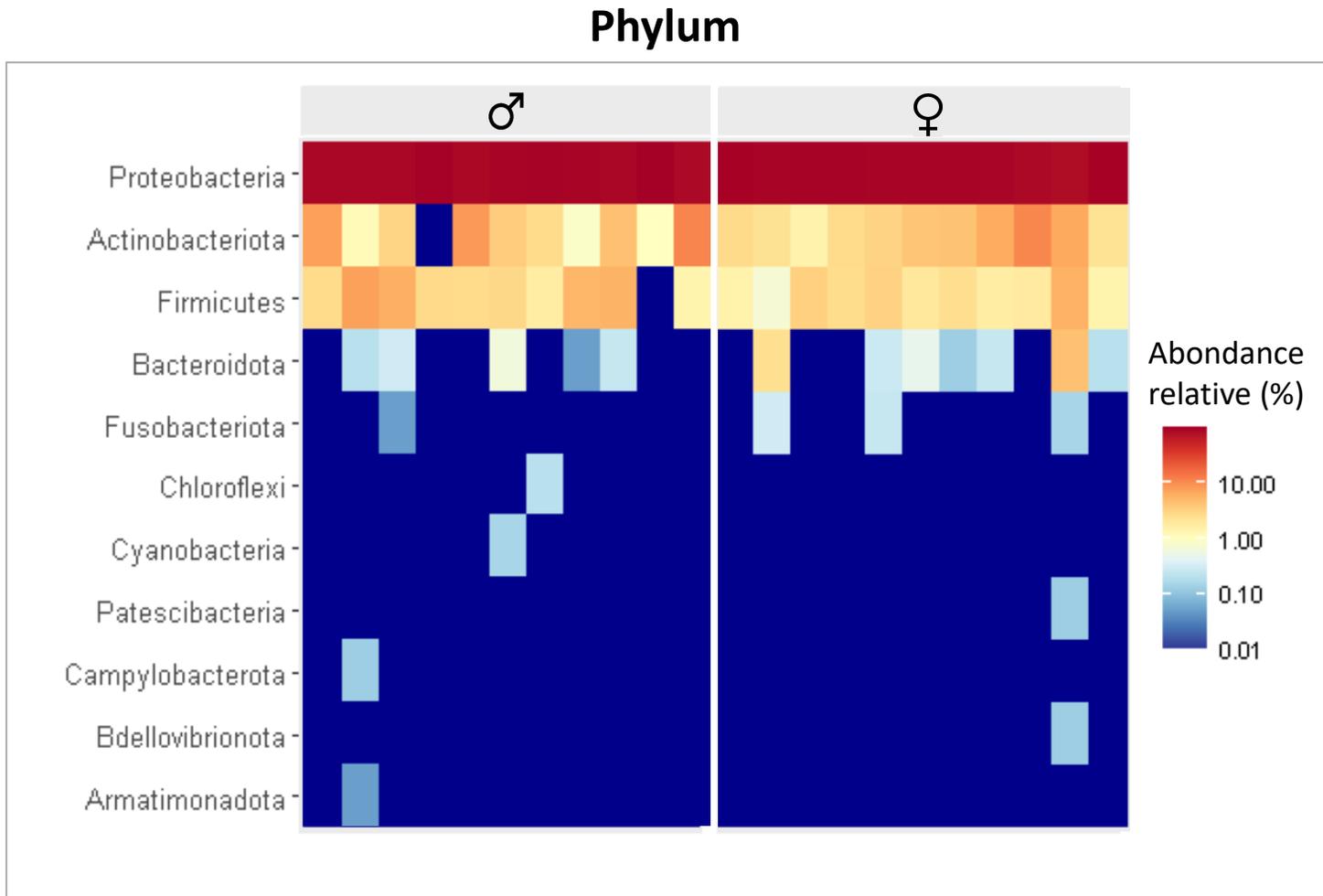


Description du microbiote

139 MOTUs identifiés chez les 22 poussins

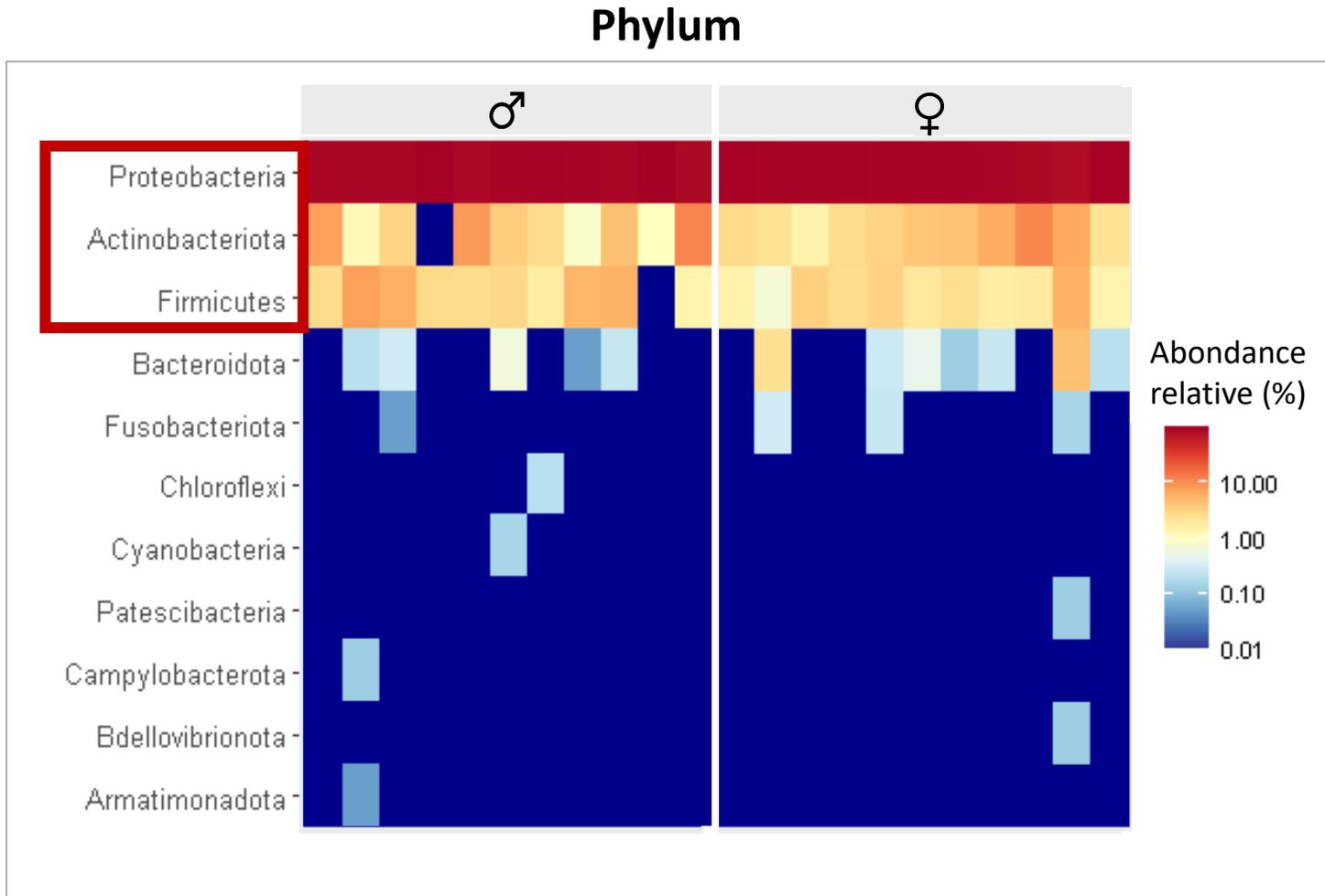
Description du microbiote

139 MOTUs identifiés chez les 22 poussins



Description du microbiote

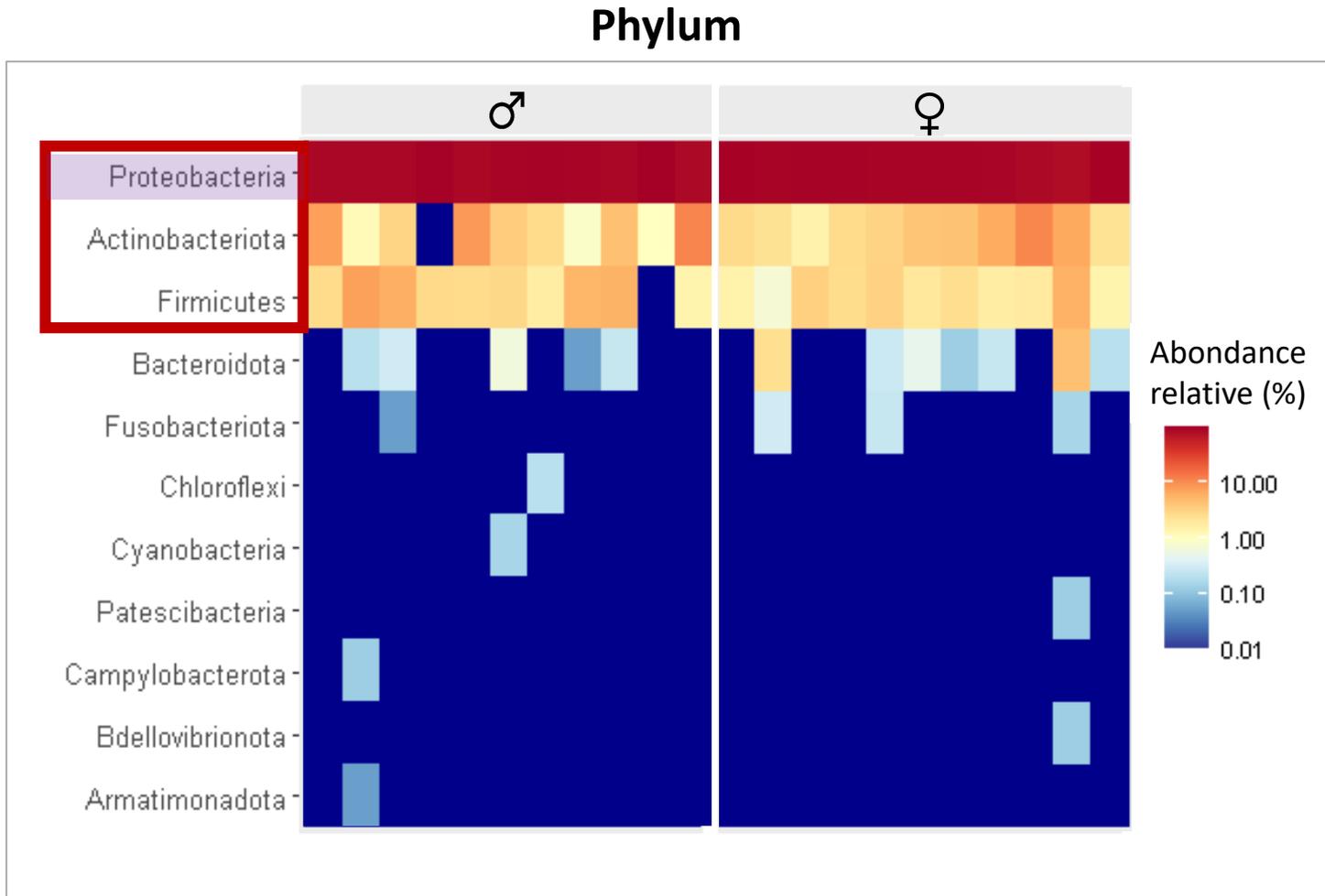
139 MOTUs identifiés chez les 22 poussins



- **3 phylums** majoritairement retrouvés

Description du microbiote

139 MOTUs identifiés chez les 22 poussins



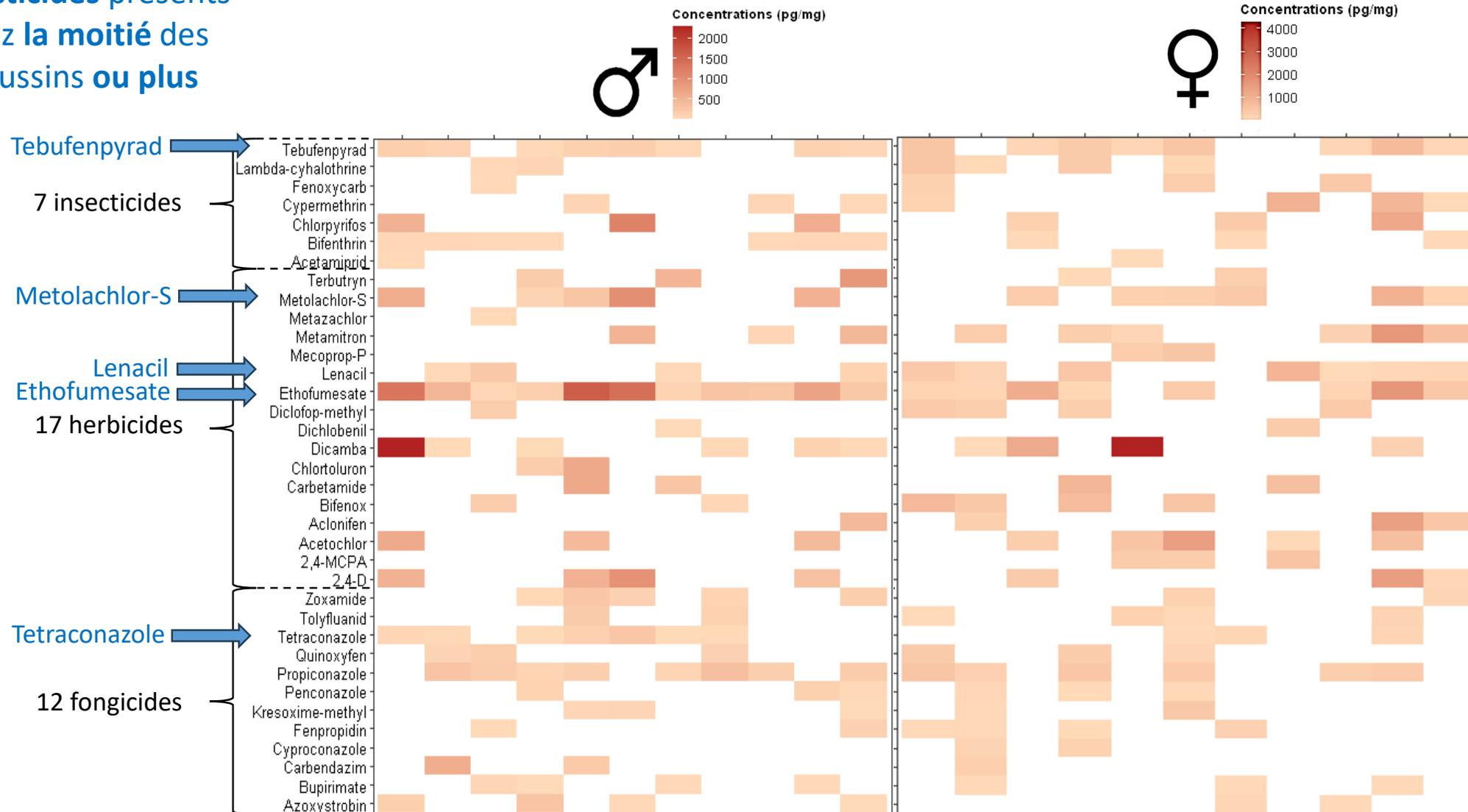
- **3 phylums** majoritairement retrouvés
- **Protéobactéries** avec une abondance >75%

Description du niveau de contamination par les pesticides

36 molécules détectées chez les 22 poussins

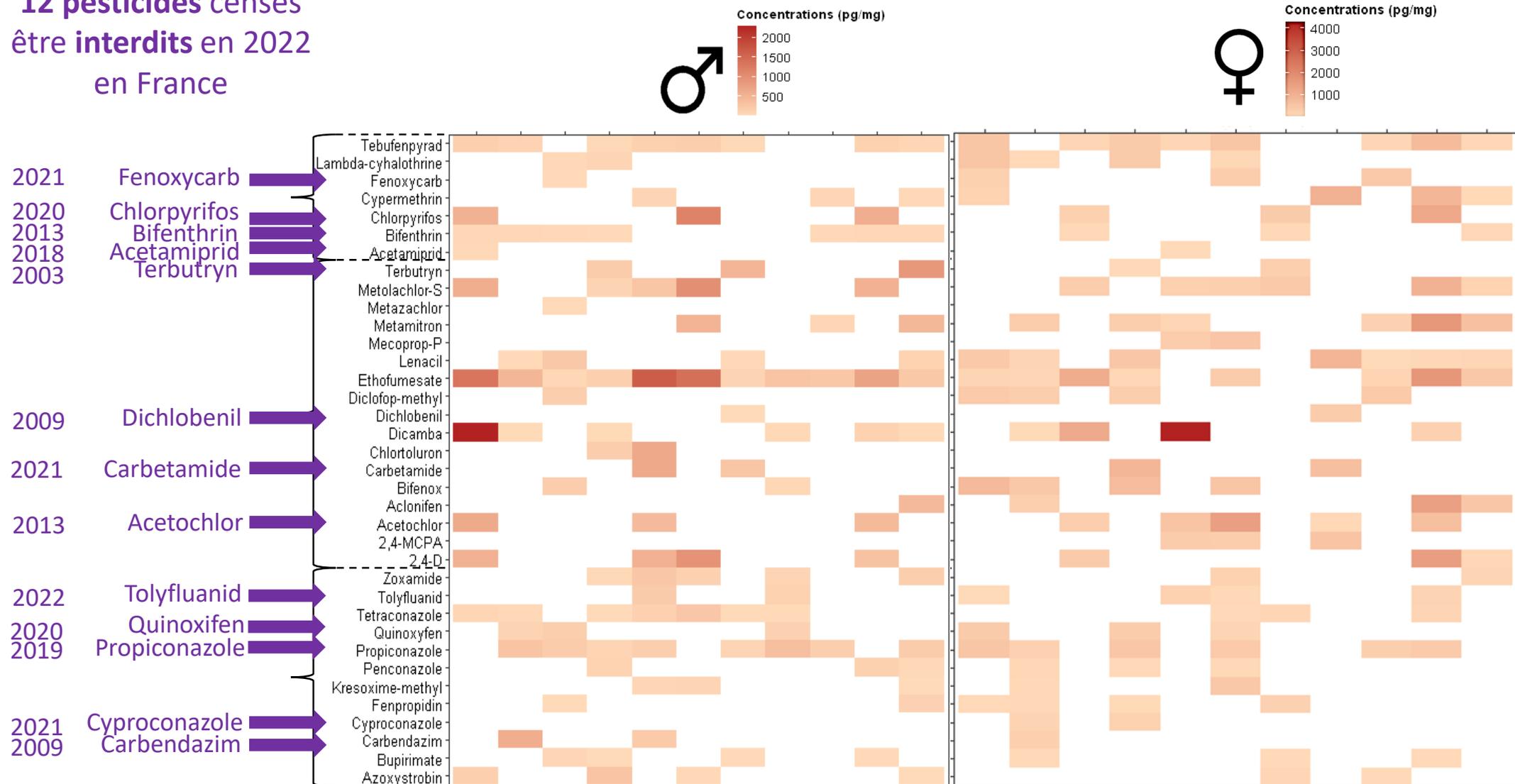
Description du niveau de contamination par les pesticides

5 pesticides présents
chez la moitié des
poussins ou plus



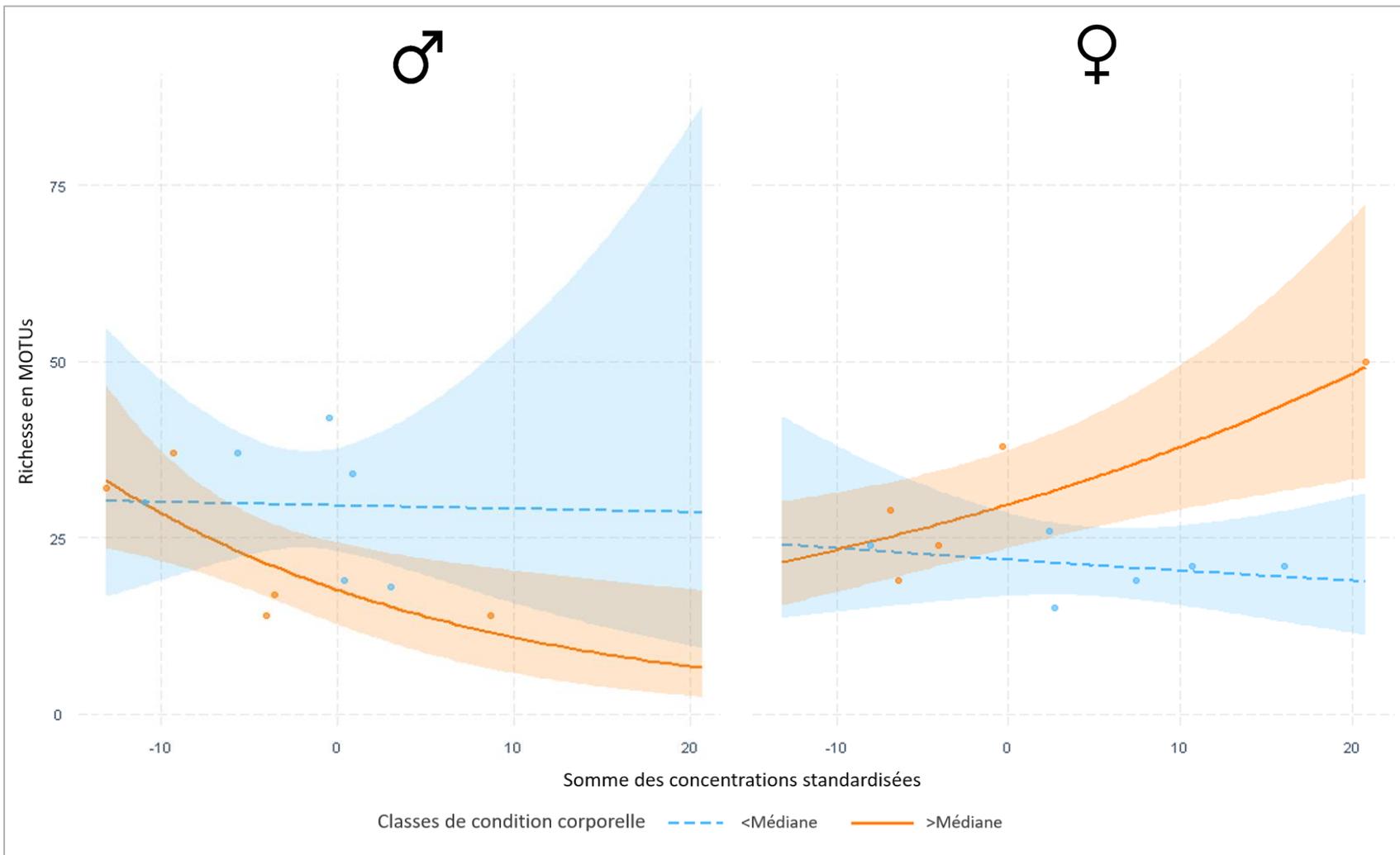
Description du niveau de contamination par les pesticides

12 pesticides censés être interdits en 2022 en France

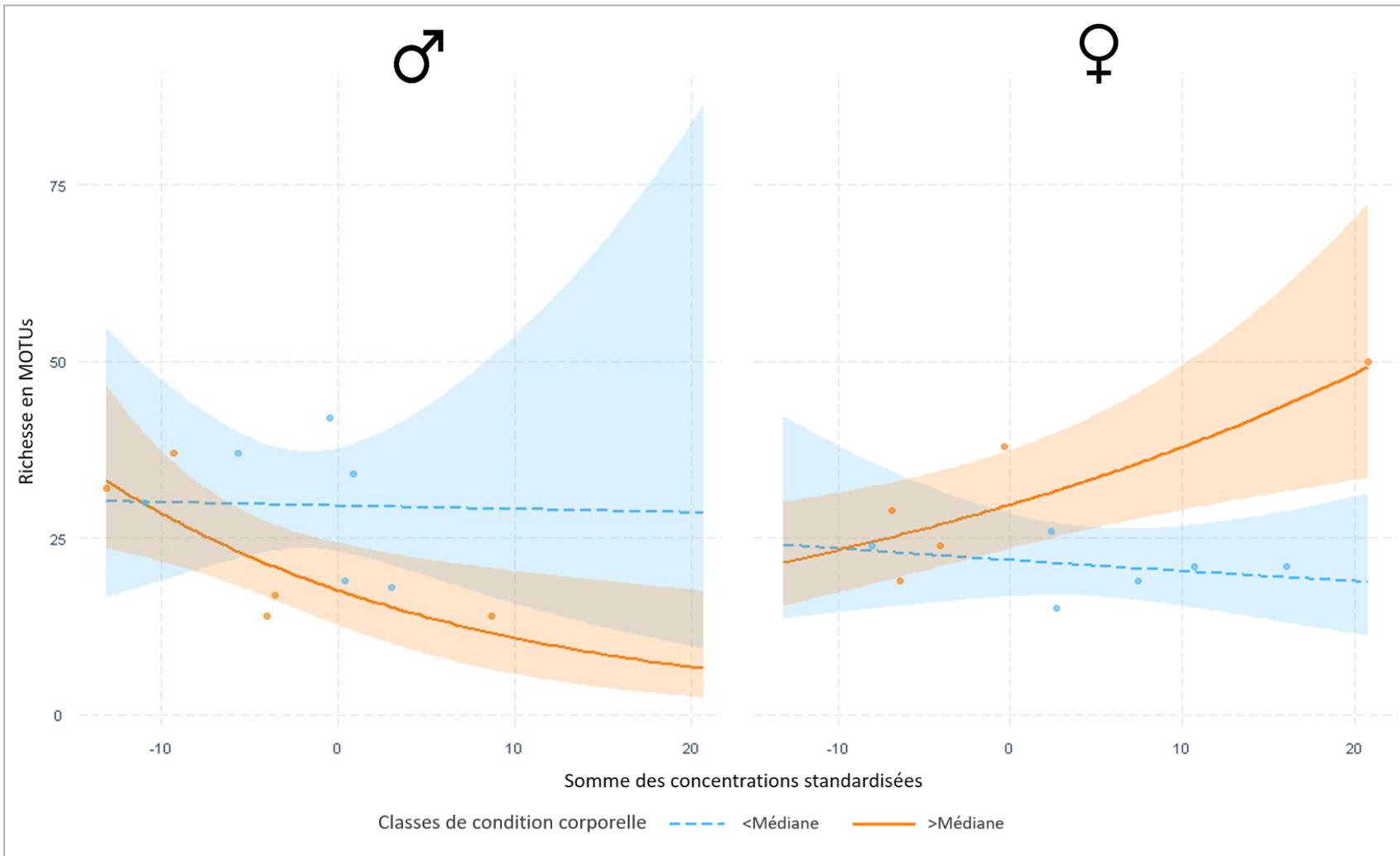


Relation entre microbiote et pesticides

Relation entre microbiote et pesticides



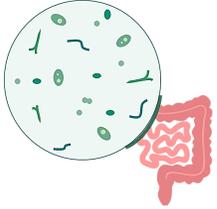
Relation entre microbiote et pesticides



Individus avec une **forte condition corporelle**

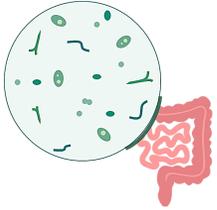
→ Relation entre la richesse en MOTUS et la somme des concentrations en pesticides est **différente selon le sexe**

Résumé des résultats



- **3 phylums** principalement retrouvés : Protéobactéries, Actinobactéries, Firmicutes
- **Protéobactéries** : abondance > **75%**

Résumé des résultats

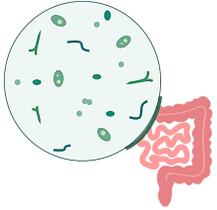


- **3 phylums** principalement retrouvés : Protéobactéries, Actinobactéries, Firmicutes
- **Protéobactéries** : abondance > **75%**



- **5 pesticides** présents chez la moitié des poussins (ou plus, *ex. Ethofumesate*)
- **12 pesticides** censés être interdits d'utilisation en 2022

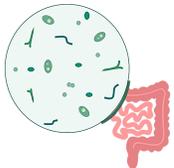
Résumé des résultats



- **3 phylums** principalement retrouvés : Protéobactéries, Actinobactéries, Firmicutes
- **Protéobactéries** : abondance > **75%**

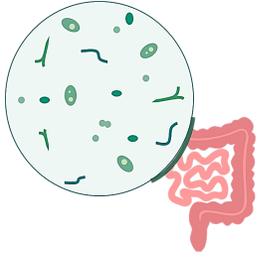


- **5 pesticides** présents chez la moitié des poussins (ou plus, *ex. Ethofumesate*)
- **12 pesticides** censés être interdits d'utilisation en 2022



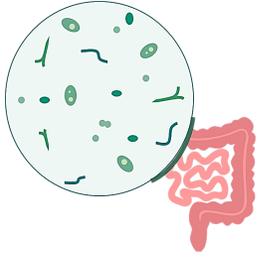
- Chez les individus avec une **forte condition corporelle**
 - **Mâles** : **relation négative** entre richesse en MOTUs et somme des concentrations en pesticides
 - **Femelles** : **relation positive** entre richesse en MOTUs et somme des concentrations en pesticides

Discussion des résultats



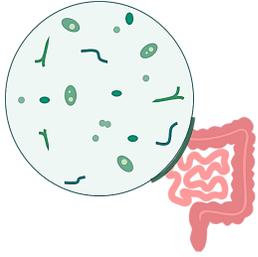
- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**
→ Firmicutes, Actinobactéries, Bactéroidètes, Protéobactéries

Discussion des résultats



- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**
→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**

Discussion des résultats



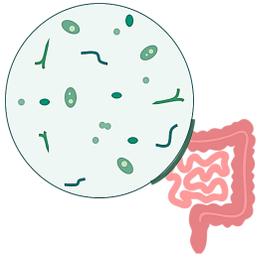
- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**

→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**



Phylum le **plus diversifié**, jouant un rôle dans la préparation de l'intestin à une **future colonisation**

Discussion des résultats



- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**

→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**

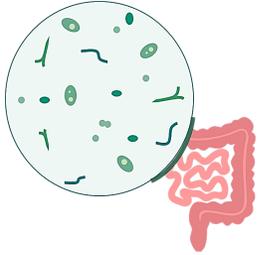


Phylum le **plus diversifié**, jouant un rôle dans la préparation de l'intestin à une **future colonisation**



- **Exposition à un cocktail de pesticides**

Discussion des résultats



- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**

→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**



Phylum le **plus diversifié**, jouant un rôle dans la préparation de l'intestin à une **future colonisation**

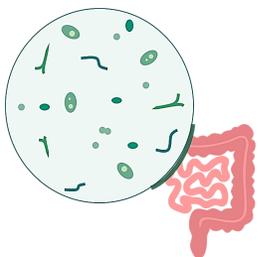


- **Exposition à un cocktail de pesticides**

- **Pesticides interdits :**

→ **Rémanence** dans le sol traité avant interdiction, détoxification des mères ou usage frauduleux

Discussion des résultats



- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**

→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**



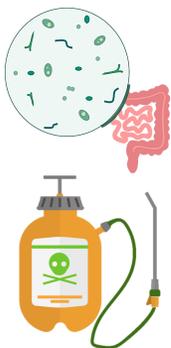
Phylum le **plus diversifié**, jouant un rôle dans la préparation de l'intestin à une **future colonisation**



- **Exposition à un cocktail de pesticides**

- **Pesticides interdits :**

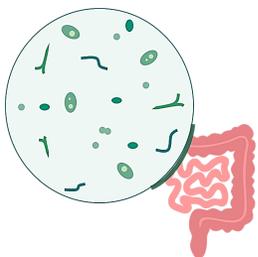
→ **Rémanence** dans le sol traité avant interdiction, détoxification des mères ou usage frauduleux



- **Chez les mâles : relation attendue** (Effets organophosphates)



Discussion des résultats



- **Composition bactérienne généralement retrouvée chez les oiseaux**

→ **Firmicutes**, Actinobactéries, Bactéroidètes, **Protéobactéries**



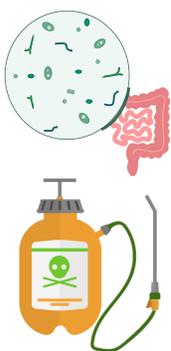
Phylum le **plus diversifié**, jouant un rôle dans la préparation de l'intestin à une **future colonisation**



- **Exposition à un cocktail de pesticides**

- **Pesticides interdits :**

→ **Rémanence** dans le sol traité avant interdiction, détoxification des mères ou usage frauduleux



- **Chez les mâles : relation attendue** (Effets organophosphates)

- **Relation contraire chez les femelles**

→ **Différences de métabolisme**



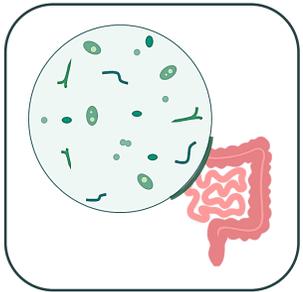
Conclusion

Mise en évidence d'un lien entre la **richesse du microbiote** et l'**exposition aux pesticides**



Conclusion

Mise en évidence d'un lien entre la **richesse du microbiote** et l'**exposition aux pesticides**

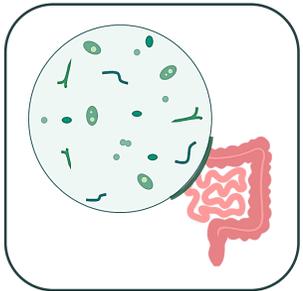


**Déclin des oiseaux sauvages
spécialistes du milieu agricole**



Conclusion

Mise en évidence d'un lien entre la **richesse du microbiote** et l'**exposition aux pesticides**



Déclin des oiseaux sauvages spécialistes du milieu agricole



Problématique du **lien entre microbiote intestinal, pesticides et santé de l'oiseau**



Transposable



ONE HEALTH





Merci pour votre
attention

Annexe 1



MICROBIOTE

Richesse en MOTUs, indice de diversité spécifique
→ Diversité alpha



PESTICIDES

Nombre de pesticides, somme des concentrations en pesticides

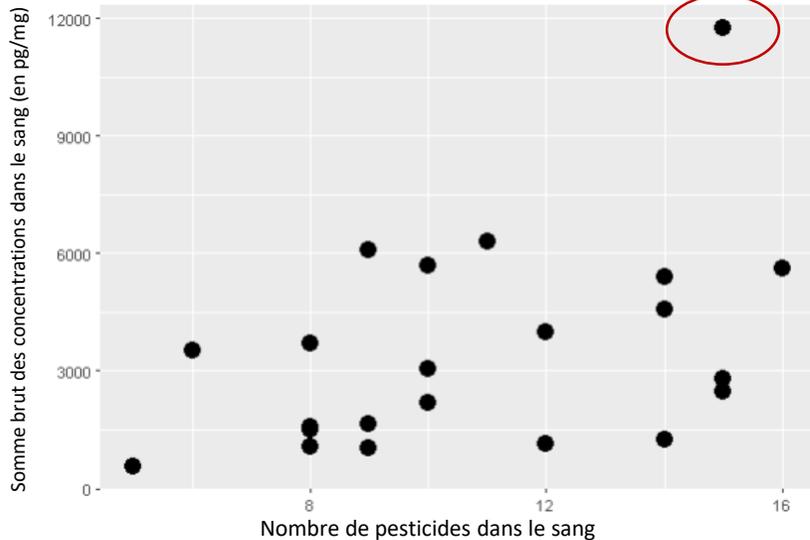


Indice de Shannon : Nb d'espèces dans un milieu et répartition des individus au sein de ces espèces



Modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM)

Diversité alpha ~ sexe*condition corporelle*pesticides + (1 | nid)



Test de corrélation de Spearman basé sur Bootstrap

Somme des concentrations standardisées par pesticide
(variables centrées réduites puis additionnées)

Corrélation avec le nombre de pesticides : rho = 0.70 [0.35;0.89]

Corrélation avec la somme brut : rho = 0.81 [0.58;0.93]

Corrélation de Spearman avec bootstraps pour avoir les IC un peu plus robustes



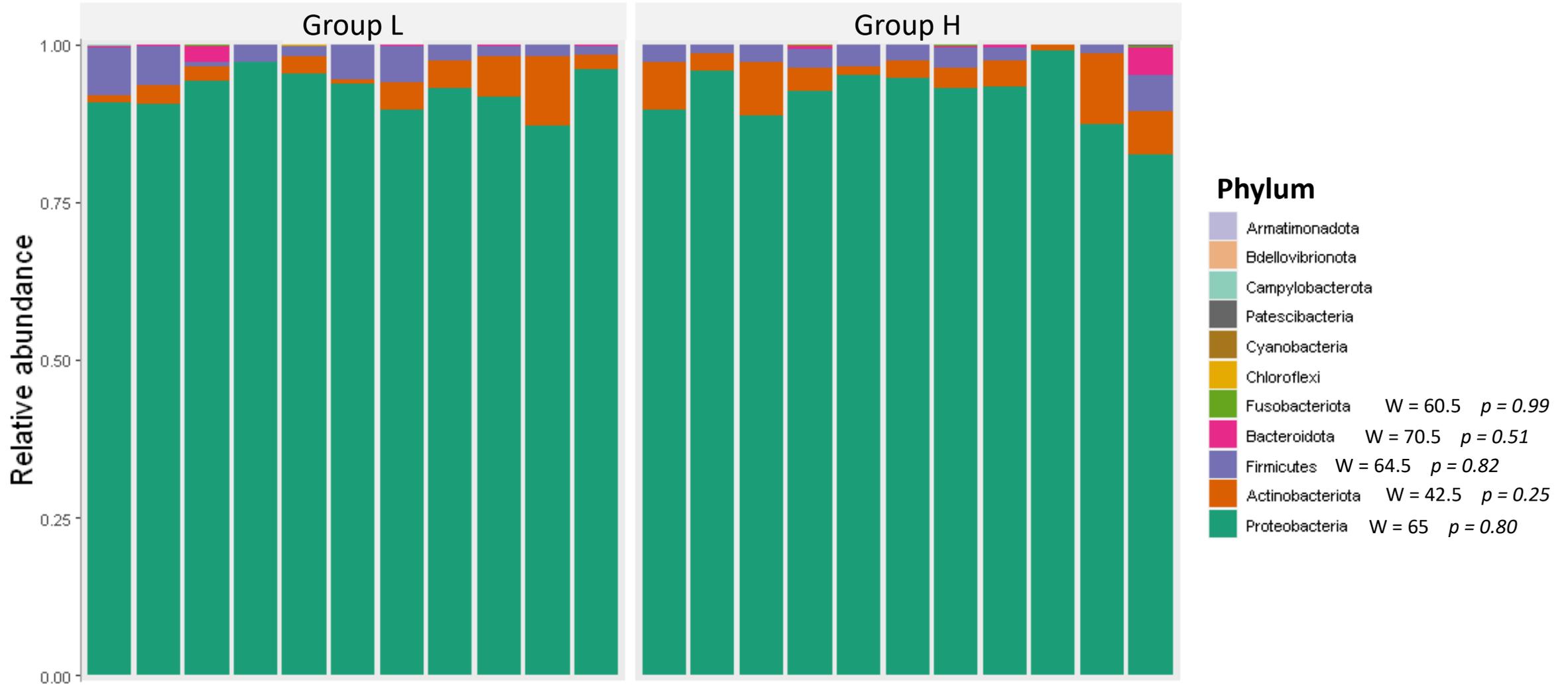
Tests sensibles à la faible taille d'échantillon

- Chez les **mâles** avec une condition corporelle **en dessous de la médiane** : $\rho = -0.49 [-1 ; 0.64]$
- Chez les **mâles** avec une condition corporelle **au-dessus de la médiane** : $\rho = -0.72 [-1 ; 0.40]$
- Chez les **femelles** avec une condition corporelle **en dessous de la médiane** : $\rho = -0.41 [-0.92 ; 1]$
- Chez les **femelles** avec une condition corporelle **au-dessus de la médiane** : $\rho = 0.70 [-0.67 ; 1]$

Annexe 3

Comparaison de la composition taxonomique (phylum) selon groupe de contamination

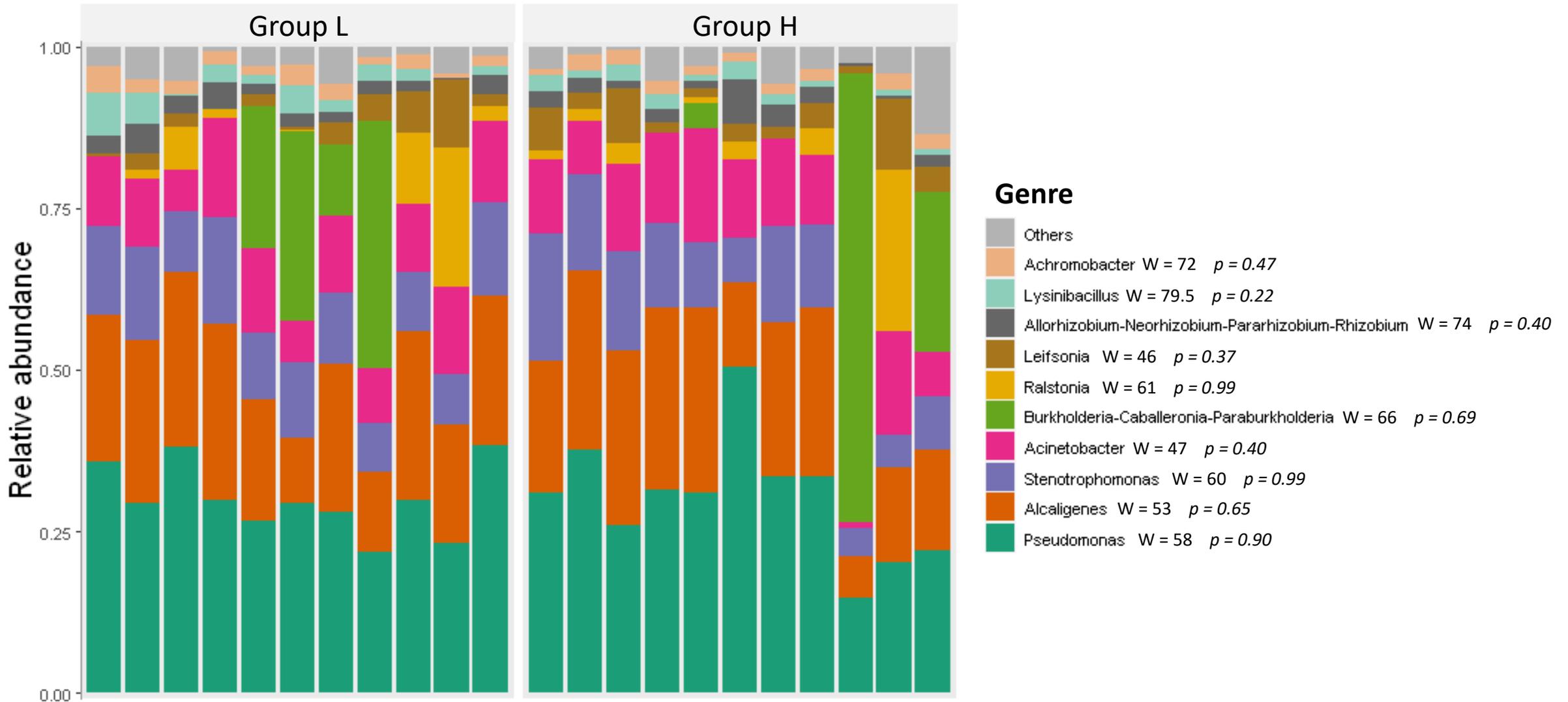
L : somme conc. < médiane ; H : somme conc. > médiane



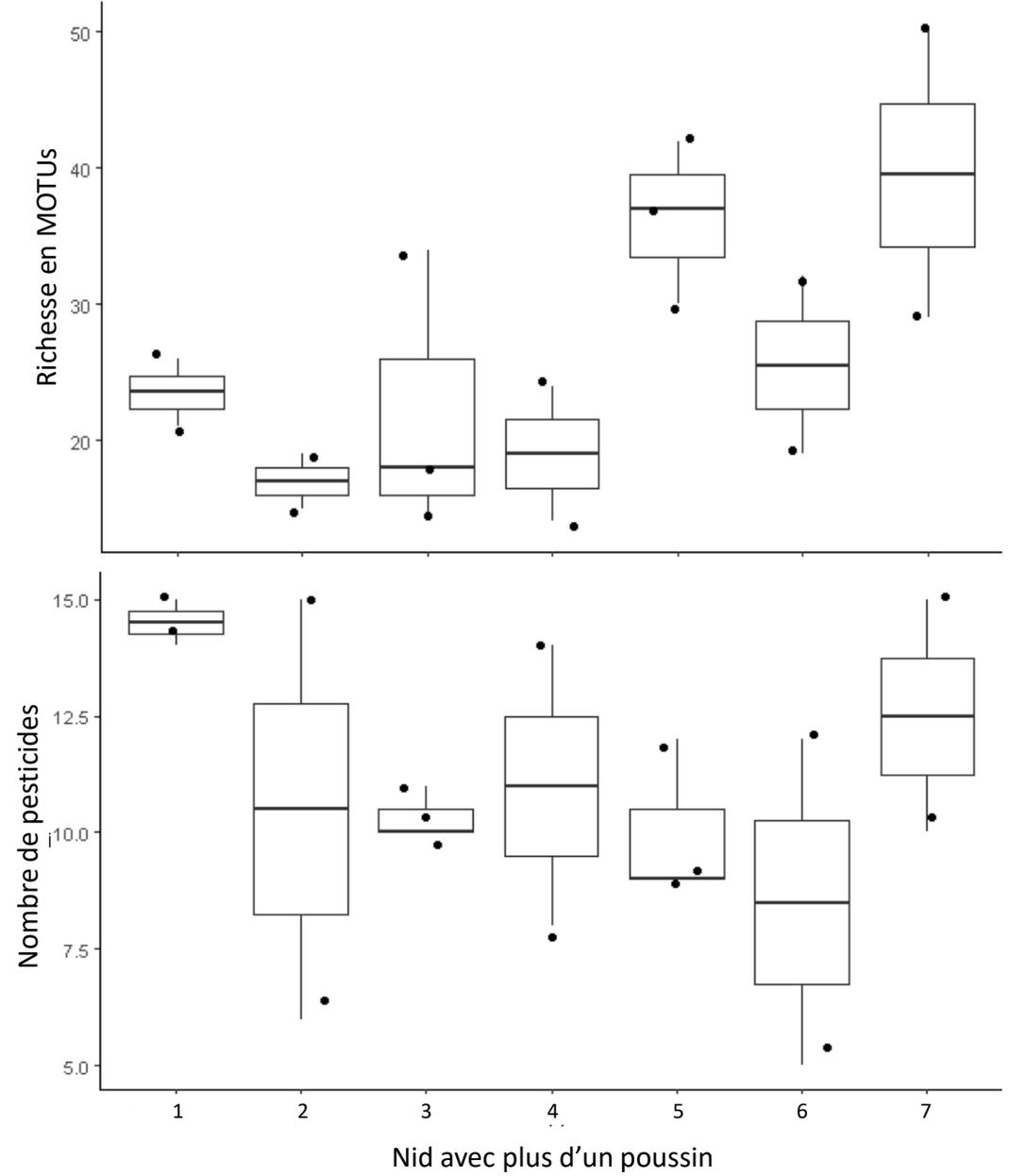
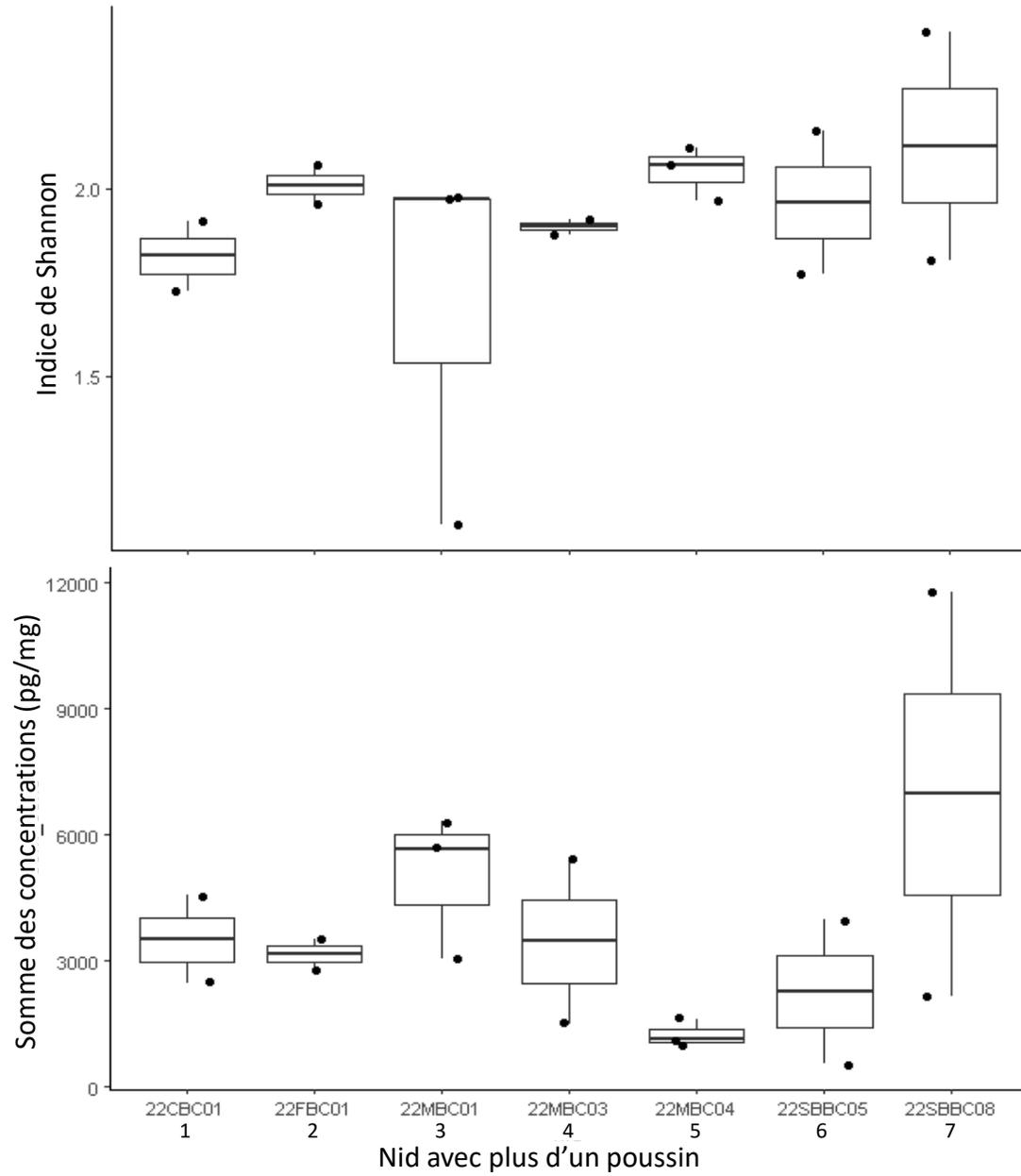
Annexe 4

Comparaison de la composition taxonomique (genre) selon groupe de contamination

L : somme conc. < médiane ; H : somme conc. > médiane



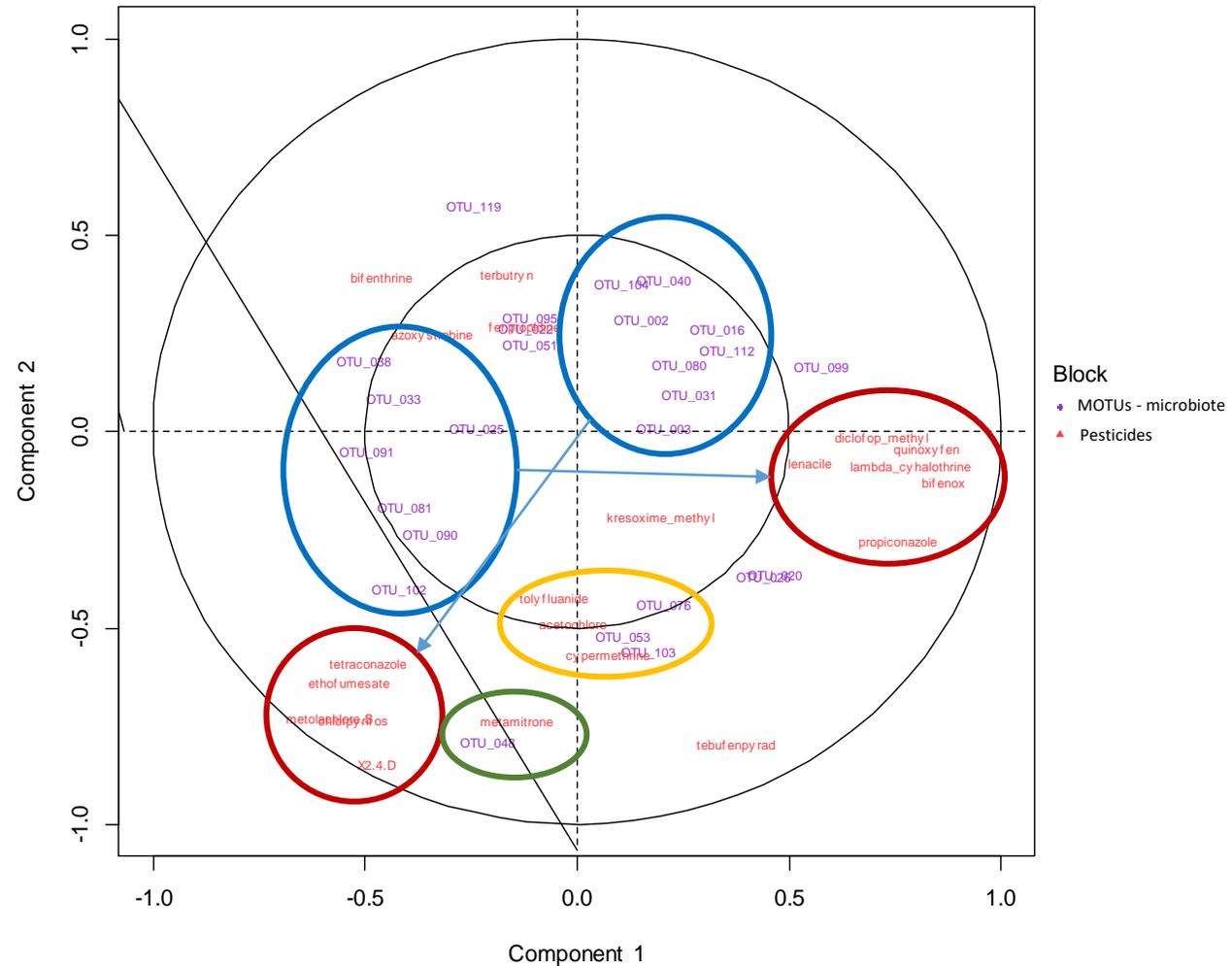
Annexe 5



Annexe 6

Sparse least square discriminant analysis

Correlation Circle Plot



Annexe 7

Caractéristiques des 36 pesticides détectés dans les 22 échantillons de sang de poussins du Busard cendré classés par type et par ordre alphabétique.

Espèces de laboratoire pour l'oiseau DL50 : *Colinus virginianus*, *Coturnix c. japonica*, *Anas platyrhynchos*, *Phasianus sp.*, *Serinus canaria*.

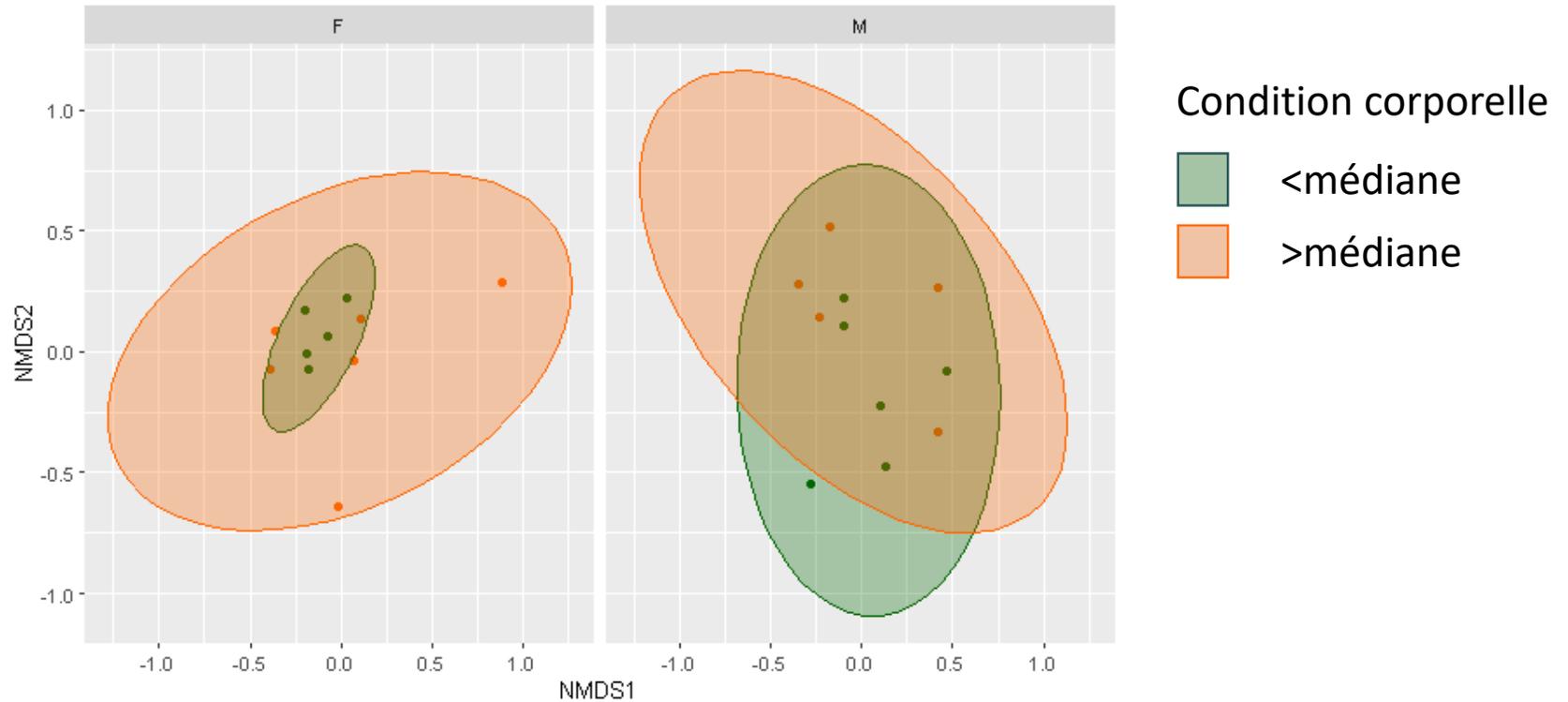
Statut du règlement CE 1107/2009.

Type	Name	Chemical family	EC regulation	Expiration of approval (in France)
FUNGICIDE				
	Azoxystrobin	Strobilurin	Approved	
	Bupirimate	Pyrimidine	Approved	
	Carbendazim	Benzimidazole	Disapproved	2009
	Cyproconazole	Triazole	Disapproved	2021
	Fenpropidin	Piperidine	Approved	
	Kresoxime-methyl	Strobilurin	Approved	
	Penconazole	Triazole	Approved	
	Propiconazole	Triazole	Disapproved	2019
	Quinoxifen	Quinoleine	Approved	
	Tetraconazole	Triazole	Approved	
	Tolyfluanid	Sulfamide	Disapproved	2022
	Zoxamide	Benzamide	Approved	
HERBICIDE				
	2,4-D	Phenoxy-carboxylic acid	Approved	
	2,4-MCPA	Phenoxy-carboxylic acid	Approved	
	Acetochlor	Chloroacetamide	Disapproved	2013
	Aclonifen	Diphenylether	Approved	
	Bifenox	Diphenylether	Approved	
	Carbetamide	Carbamate	Disapproved	2021
	Chlortoluron	Urea	Approved	
	Dicamba	Benzoates	Approved	
	Dichlobenil	Nitrile	Disapproved	2009
	Diclofop-methyl	Phenoxy-carboxylates	Approved	
	Ethofumesate	Benzofuran	Approved	
	Lenacil	Uracil	Approved	
	Mecoprop-P	Phenoxy-carboxylic acid	Approved	
	Metamitron	Triazinone	Approved	
	Metazachlor	Chloroacetamide	Approved	
	Metolachlor-S	Chloroacetamide	Approved	
	Terbutryn	Triazine	Disapproved	2003
INSECTICIDE				
	Acetamiprid	Neonicotinoid	Disapproved	2018
	Bifenthrin	Pyrethroid	Disapproved	2013
	Chlorpyrifos	Organophosphate	Disapproved	2020
	Cypermethrin	Pyrethroid	Approved	
	Fenoxycarb	Carbamate	Disapproved	2021
	Lambda-cyhalothrine	Pyrethroid	Approved	
	Tebufenpyrad	Pyrazole	Approved	

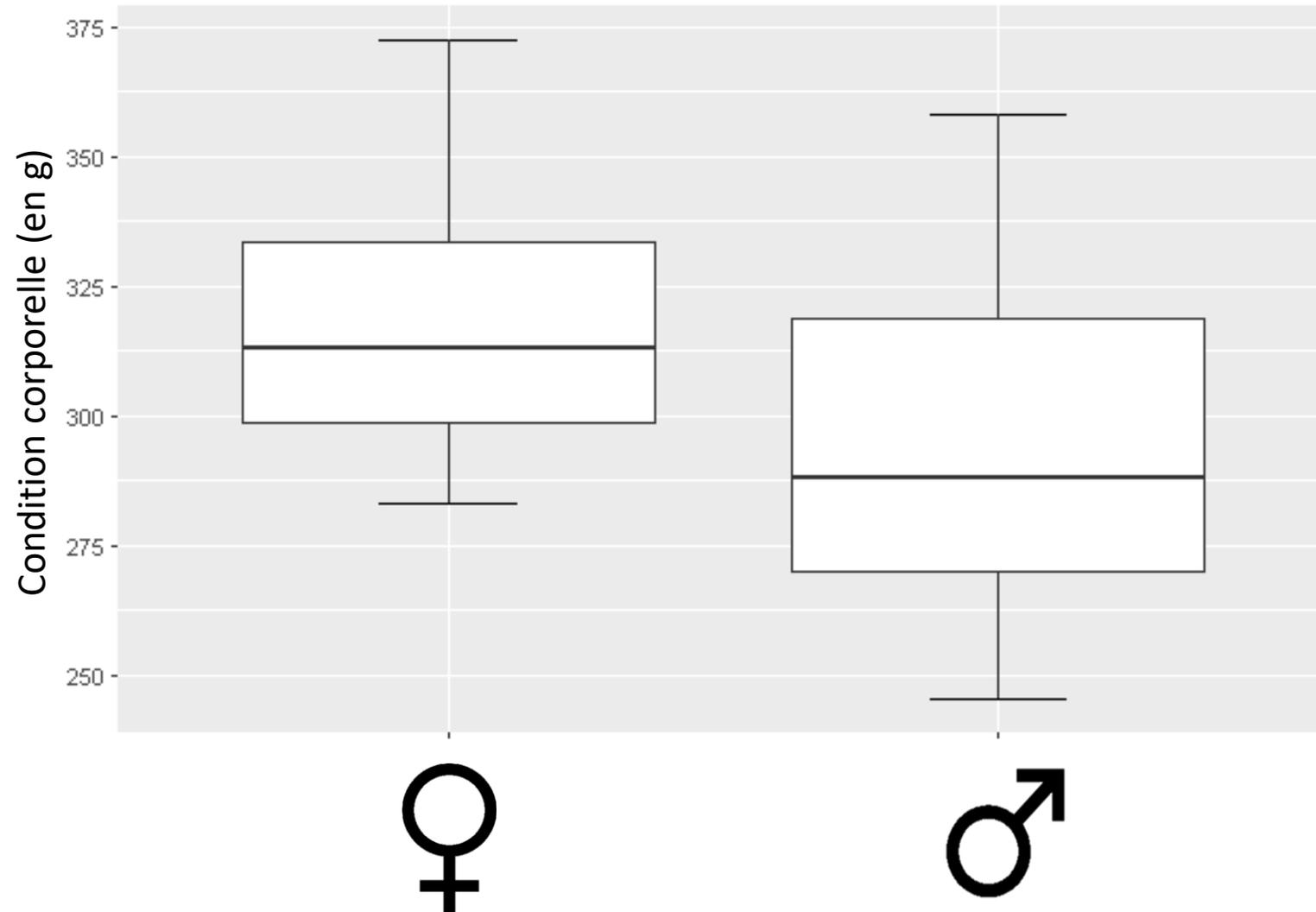
Annexe 8

Diversité bêta (comparaison de la similarité entre deux communautés)

Indice de Jaccard
Entre 0 et 1 : proche de 1,
signifie qu'un nombre
important de MOTUs se
rencontre dans les deux
microbiotes



Annexe 9



Annexe 10

Richesse moyenne en MOTUs : 26.36 ± 2.13 MOTUs

Diversité (Shannon) : 1.93 ± 0.05 MOTUs

Richesse :  26.73 ± 3.15 MOTUs
Diversité : 1.92 ± 0.09

 26.00 ± 3.02 MOTUs
 1.94 ± 0.06

W = 62, p-value = 0.95

W = 42, p-value = 0.25

Nombre de pesticides moyen : 10.82 ± 0.68 pesticides

Somme moyenne des concentrations : 3494.38 ± 557.49 pg/mg

Nombre de pesticides :  10.63 ± 0.90 pesticides

Somme des concentrations : 2717.61 ± 641.32 pg/mg

 11 ± 1.06 pesticides

4271.16 ± 879.43 pg/mg

W = 62, p-value = 0.95

W = 84, p-value = 0.13