

Sujet de thèse: Etude de la communication chimique entre le crabe (*C. maenas*) et son parasite la sacculine (*S. carcini*).

Directeur de thèse:
Nicolas Rabet HDR

nicolas.rabet@mnhn.fr

Co-directeur(s) titulaire(s) HDR:

Co-directeur(s) non-titulaire(s) HDR:

Fabienne Audebert

Equipe:

Equipe 4: Dispersion larvaire et organisation en milieu austral et insulaire tropical.

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

Trédez Fabien, Nicolas Rabet, Laure Bellec and Audebert Fabienne (2017). Synchronism of naupliar development of *Sacculina carcini* (Crustacea, Rhizocephala) revealed by precise monitoring. *Helgoland Marine Research* 70:26

Elsa Denker, Michaël Manuel, Lucas Leclère, Hervé Le Guyader, Nicolas Rabet (2008). Ordered progression of nematogenesis from stem cells through differentiation stages in the tentacle bulb of *Clytia hemisphaerica* (Hydrozoa, Cnidaria). *Developmental Biology* 315: 99-113.

Elsa Denker, Eric Bapteste, Hervé Le Guyader, Michaël Manuel, Nicolas Rabet (2008). Horizontal gene transfer and the evolution of cnidarian stinging cells. *Current Biology*. 18: R858-R859.

Elsa Denker, Arnaud Chatonnet, Nicolas Rabet (2008). Acetylcholinesterase activity in *Clytia hemisphaerica* (Cnidaria). *Chemico-Biological Int* 175:125-128

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

Ce sujet propose d'étudier la communication entre l'hôte et son parasite en deux volets ; a. la recherche active de son hôte par l'olfaction de la larve de sacculine et b. comment le parasite modifie le fonctionnement de son hôte.

Les crustacés cirripèdes présentent différents modes de vie : fixés sur un minéral (Balane), fixés sur un organisme vivant (baleine, gorgone, éponge) ou encore parasites (Sacculine). Les cirripèdes constituent à ce titre un groupe d'étude pertinent pour la compréhension des étapes-clés conduisant à l'apparition du parasitisme, phénomène essentiel dans l'évolution. Chez les cirripèdes rhizocephales, la sacculine est l'espèce parasite la plus connue. En effet, *Sacculina carcini* est parasite du crabe vert (*Carcinus maenas*). Son cycle est connu : la larve femelle sacculine (kentrogone) vient se fixer sur un crabe en lui injectant un amas de cellules (vermigon; assimilable à des cellules souches) qui vont se développer sous forme de racine et envahir le corps de l'hôte. Puis cette sacculine femelle produira un externa visible sous l'abdomen du crabe. Alors la larve mâle (trichogon) de sacculine viendra se fixer sur l'externa et se transformera en un « testicule ». La sacculine sera fécondée et produira à son tour de nouvelles larves.

La sacculine a la particularité de communiquer avec son hôte, le crabe, afin de modifier sa physiologie et son comportement, pour son propre bénéfice. Ainsi, Giard (1886) a montré que la sacculine féminise son hôte mais sans identifier les mécanismes mis en jeu. Rubiliani (1985) a par ailleurs observé que la mue de l'hôte est aussi complètement inhibée, par la présence du parasite, via des molécules chimiques circulantes. Il a également montré que les molécules circulantes dérivent en grande partie la glande de mue et donc bloquent sa fonction hormonale. L'ensemble de ces modifications physiologiques, dues à la présence de ce parasite, la sacculine, dans le crabe sont des phénomènes biologiques remarquables encore très mal connus. Lors de la thèse, nous nous proposons d'étudier les mécanismes de communications hôte/parasite. Corey et al (2013) a démontré que des récepteurs ionotropiques (IRs), très présents chez les insectes, étaient conservés chez les crustacés et qu'ils tiendraient le rôle de « récepteur olfactif » auprès des neurones. L'un de ces récepteurs IR25 a été trouvé récemment par notre équipe, chez les larves de deux espèces de balanes, mais également chez deux espèces de sacculines adultes. Pour la sacculine, ce récepteur est probablement impliqué dans le recrutement larvaire, et pour les larves mâles, trichogons, dans la recherche d'une femelle adulte.

Dans un premier temps, nous chercherons à comparer la présence de l'IR25 dans le groupe des Cirripèdes (balane et rhizocephale) et à rechercher leur expression par hybridation in situ. Une meilleure compréhension de l'expression de ce récepteur permettrait de mieux étudier les cycles de vie de ces animaux ainsi que l'émergence d'aptitudes particulières aussi bien à la phorésie des balanes qu'au parasitisme des Rhizocephales. L'étude du fonctionnement biochimique de ces récepteurs pourrait également nous amener à étudier et proposer des applications pratiques.

Dans un second temps, nous ciblerons l'hémolymphe du crabe, vecteur probable de la communication chimique entre l'hôte et son parasite. Notre stratégie repose sur la comparaison des peptidomes /protéomes circulants du crabe sacculiné versus non sacculiné et mâle versus femelle. Le différentiel devrait nous permettre d'accéder aux molécules de communication exprimées et libérées dans l'hémolymphe du crabe par l'hôte et le parasite adulte.

A cet effet, nous avons réalisé en 2016 des lignes de séquençages. Les spécimens hôte/ parasite utilisés sont issus d'un même site, où nos analyses génétiques ont révélé une population génétiquement homogène. Très récemment, nous avons donc obtenu le transcriptome de la sacculine du crabe vert. Le transcriptome du crabe vert est connu (Verbruggen et al, 2015) ainsi que celui de *Balanus amphitrite* (Yan et al, 2012). Ces données sur le transcriptome vont nous permettre de disposer d'informations sur la nature des gènes utilisés dans cette relation. Nous allons également comparer les données peptidomiques/ protéomiques issues du crabe vert parasité avec celle du crabe sain. De ce fait, l'interaction chimique qui existe entre le parasite et l'hôte pourra être dépistée lors de l'analyse in silico. Toutes ces données permettront de mieux comprendre l'expression des gènes de l'adulte de sacculine quasiment inconnue, et de comprendre les interactions entre l'hôte et le parasite.

Stratégie de publication:

1ère publication : Etude comparative de la réception chimique chez différents Cirripèdes (Thoracica et Rhizocephala) par l'apport de la transcriptomique.

2e publication : Etude de l'expression des gènes impliqués dans les ORNs (Olfactory Receptor Neurons) : chez les nauplies, la cypris, le trichogon, l'adulte femelle et mâle de Sacculine.

3e publication : Analyses des différents transcriptomes de cirripèdes.

4ème publication : Etude de l'expression de quelques gène(s) in vivo suspecté(s) d'avoir un rôle dans la communication chimique entre l'hôte et le parasite

5ème publication : Etude de l'effet d'un transcrit suspecté d'être impliqué dans la communication hôte-parasite par injection de protéine de synthèse dans des crabes sains.

Réorientation possible du sujet si échecs:

Le facteur limitant est le matériel biologique vivant, et les méthodes de dissection de la sacculine externa et réseau de racines. En cas de problème, une collecte en mer est facilement envisageable.

De plus l'approche combine une comparaison peptide/ protéome et de la transcriptomique. Nous avons déjà le transcriptome d'une sacculine qu'il va maintenant falloir analyser. Si nous ne trouvons pas de gène « candidat » pour expliquer les effets du parasite sur le crabe (blocage de la mue, féminisation etc) il sera toujours possible d'identifier des gènes du développement dont l'analyse reste inconnue chez l'adulte parasite. Cette étude constituera un sujet refuge toujours très innovant.

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

1ère année :

- Prise en main transcriptome et analyse comparative chez les Cirripèdes
- Lancement de RT-PCR et d'HIS / IR
- Rédaction du 1er et 2e article

2e année :

- Etude biochimique des IR et compréhension du fonctionnement physiologique de ceux-ci chez la Sacculine
- Lancement de RT-PCR et d'HIS de gènes impliqués dans les modifications phénotypiques de l'hôte
- Test d'une ou deux protéines de synthèse sur des crabes sains
- Rédaction du 3e et 4e article

3e année :

- Analyse et synthèse des résultats de l'injection de protéines de synthèse
- Rédaction du 5e article
- Rédaction de la thèse

Profil du candidat recherché:

Nous recherchons une ou un candidat intéressé (e) par les processus évolutifs, très rigoureux et motivé. Le ou la candidat(e) devra avoir de bonnes connaissances en biologie animale, en hybridation in situ, et en immunohistochimie ainsi qu'en bio-informatique.