

18 & 19 janvier  
2016 à Paris  
UPMC / Bâtiment  
Esclangon

# Les journées scientifiques de l'UMR BOREA

Programme et résumés



UMR BOREA BIOLOGIE DES ORGANISMES  
ET ECOSYSTEMES AQUATIQUES  
[www.borea.mnhn.fr](http://www.borea.mnhn.fr)



# Journées scientifiques de l'UMR BOREA

18 & 19 janvier 2016, UPMC, Paris

## Programme

### Lundi 18 janvier 2016, matinée

*Amphithéâtre Durand, Bâtiment Esclangon, UPMC*

**9:30-10:00**

**Accueil – café**

**10:00-10:15**

**Introduction générale sur les Journées : Sylvie Dufour**

#### **SESSION 1**

**10:15-12:20**

#### **HIGHLIGHT(S) DES EQUIPES**

*10 min d'exposé + 5 min de discussion*

*Modérateurs : Etienne Bézault et Katherine Costil*

**10:15-10:30**

**Equipe 7 « Biodiversité et Macroécologie »** (Responsable : Bernard Hugueny)

Jesus Nuñez : « Etude du comportement chez *Arapaima gigas* par télémétrie radio et ultrasonique : du milieu naturel au milieu d'élevage »

**10:30-10:45**

**Equipe 6 « Source et transfert de la matière organique en milieu aquatique »** (Responsable : Tarik Méziane)

Dominique Lamy : « Activité et diversité des procaryotes planctoniques dans la dynamique de dégradation de macroalgues »

**10:45-11:00**

**Equipe 5 « Diversité et interactions dans les écosystèmes côtiers »**

(Responsables : Eric Feunteun / Pascal Claquin)

Pascal Claquin : « Bioindicateurs du milieu marin : utilisation des macroalgues comme outil d'évaluation de la qualité biologique des eaux marines. Réponse à une problématique d'échouages d'algues (S. Lemesle, A-Marie Rusig, I. Mussio) »

Nathalie Niquil : « Où en est-on des questions sur l'utilisation des indices ENA (Ecological Network Analysis) comme indicateurs de santé des écosystèmes littoraux ? »

**11:00-11:20**

**Pause**

*Modérateurs : Magali Zbinden et Fabrice Duponchelle*

**11:20-11:35**

**Equipe 4 « Dispersion larvaire et organisation en milieu austral et insulaire tropical »** (Responsable : Philippe Keith)

Guy Duhamel : « Habitats des poissons marins au niveau du Plateau de Kerguelen (océan Austral) »

- 11:35-11:50**                    **Equipe 3 « Adaptation aux milieux extrêmes »** (Responsable : Bruce Shillito)  
 Juliette Ravaux : « Evaluation de l'impact de l'exploitation minière dans l'océan profond – Implication de l'équipe 3 dans le programme européen MIDAS »
- 11:50-12:05**                    **Equipe 2 « Reproduction et développement des organismes aquatiques : évolution, adaptation et régulations »** (Responsables : Laure Bonnaud-Ponticelli / Pascal Favrel)  
 Gersende Maugars : « Évolution de la famille des hormones glycoprotéiques hypophysaires et de leurs récepteurs »  
 Anne-Sophie Martinez : « Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur le sexe de l'huître creuse *Crassostrea gigas* sans jamais oser le demander... »
- 12:05-12:20**                    **Equipe 1 « Évolution des biominéralisations et adaptation aux contraintes environnementales »** (Responsables : Pascal Jean Lopez / Jean-Marc Lebel / Claude Bouchon)  
 Jean-Philippe Buffet : « Etude des systèmes d'adhésion de vers marins appartenant à la classe des polychètes : vers la production de colles biologiques adaptées aux environnements humides »
- 12:20-14:00**                    **Déjeuner (cantine de l'UPMC)**

## Lundi 18 janvier 2016, après-midi

*Amphithéâtre Durand, Bâtiment Esclangon, UPMC*

### SESSION 2                    EXPOSES 14:00-15:40

*Modérateurs : Soazig Lemoine et Sébastien Duperron*

**14:00-14:25**                    **Exposé de Rodolphe Gozlan**, IRD (Cayenne) : « Emergence d'un pathogène de poisson : une menace pour l'industrie et la biodiversité en Europe » (article Nature).

*20 min de présentation + 5 min de discussion*

**14:25-14:40**                    **Exposé de François Meunier**, MNHN (Paris) : « Le coelacanthe possède un poumon ! » (article Nature Communications).

*10 min de présentation + 5 min de discussion*

**14:40-15:00** **Point sur le renouvellement du LMI EDIA (Evolution et Domestication de l'Ichtyofaune Amazonienne).** Coordinateur: **Jean-François Renno**, IRD (Bolivie)

*10 min de présentation + 10 min de discussion*

**15:00-15:20** **Présentation de la mise en place de l'OHM (Observatoire Hommes-Milieus) CNRS-INEE « Panamax Ports Caribéens »** Coordinateur : **Pascal Jean Lopez**, CNRS (Paris et Pointe à Pitre)

*10 min de présentation + 10 min de discussion*

**15:20-15:40** **Présentation par Boris Leroy**, MNHN (Paris) : « L'initiative éthique pour la biosphère »

*10 min de présentation + 10 min de discussion*

**15:40-16:10** **Pause-café**

### **SESSION 3** **PRESENTATIONS DES DEMANDES D'INTEGRATION A L'UMR** **16:10-17:00**

*10 min de présentation + 10 min de discussion*

*Modérateurs : Sylvie Dufour et Pascal Lopez*

**16:10-16:30** **Jean-Luc Jung**, MCU, Université de Bretagne Occidentale, Brest  
« Diversité spécifique et diversité génétique des mammifères marins dans des milieux ciblés : description, analyse et recherche d'impacts des changements du milieu ».

*Modérateurs : Thierry Oberdorff et Eric Feunteun*

**16:30-16:50** **Christophe Boete**, CR, IRD, Marseille  
« Ecologie évolutive des interactions hôtes / parasites: Des moustiques aux organismes marins ».

**16:50-17:00** **Discussion générale sur d'autres demandes éventuelles d'intégration**

### **SESSION 4** **INFORMATIONS ET DISCUSSIONS GENERALES** **17:00-17:30**

**17:30-** Dépose des bagages aux hôtels  
Départ pour l'Aquarium tropical du Palais de la Porte Dorée

**Lundi 18 janvier 2016, soirée de 18h30 à 21h30 à l'Aquarium tropical du Palais de la Porte Dorée, Paris**

*(293 avenue Daumesnil, 75012 Paris, métro Porte Dorée, ligne n° 8)*

*Programme de la soirée  
18h30-21h30*

**18:30**                      **Accueil des participants (sur inscription)**

**18:45**                      **Présentation par Michel Hignette, directeur de l'Aquarium tropical du Palais de la Porte Dorée**

**Visites libres de l'Aquarium et des expositions en cours :**

« Océan et climat connectés dans le changement »  
(produite par le Labex Mer et Océanopolis dans le cadre de la COP21)

« Lengguru, un monde perdu » (produite par l'IRD)



**Buffet dînatoire**



**21:30**                      **Fin de la soirée**

## Mardi 19 janvier 2016, matinée

Amphithéâtre Durand, Bâtiment Esclangon, UPMC

**9:00-9:30**                      **Accueil**

**SESSION 5**            **RESTITUTION DES PROJETS INTER-EQUIPES/INTER-SITES DE L'ANNEE 2015 DANS**  
**9:30-12:20**            **LE CADRE DES PROGRAMMES TRANSVERSAUX DE L'UMR :**

*5 min d'exposé + 5 min de discussion*

**9:30-9:50**                      **Axe transversal Diadromie et dispersion**

*Modérateurs : responsables d'axe : Philippe Keith / Eric Feunteun*

9:30-9:40                      « Anguille américaine des Caraïbes, CARANG » (co-resp. : Eric Feunteun et Dominique Monti) – *Renouvellement demandé*

9:40-9:50                      « Structure génétique des populations et estimation de la durée de vie larvaire de *Stiphodon rutilaureus* (Gobioidei : Sicydiinae) » (co-resp. : Clara Lord et Eric Feunteun) – *Renouvellement demandé*

**9:50-10:30**                      **Axe transversal Changements globaux**

*Modérateurs : responsables d'axe : Nathalie Niquil / Pascal Jean Lopez*

9:50-10:00                      « Identification du cycle de reproduction de l'huître de palétuvier, *Crassostrea rhizophorae* et transfert de tests écotoxicologiques de *C. gigas* à *C. rhizophorae* » (co-resp. : Soazig Lemoine et Katherine Kostil) – *Renouvellement demandé*

10:00-10:10                      « Détermination du régime trophique de mollusques marins : approche par PCR sur les contenus stomacaux » (co-resp. : Karine Grangeré, Jean-Paul Robin et Kristell Kellner) – *Demande de délai pour les analyses*

10:10-10:20                      « Étude de la photo-physiologie d'Anthozoaires récifaux (coraux et gorgones) dans leur environnement – Capacités d'adaptation au changement climatique global » (co-resp. : Claude Bouchon, Pascal Jean Lopez et Pascal Claquin) – *Renouvellement demandé*

10:20-10:30                      « Place du zooplancton dans les réseaux trophiques des sites éoliens. Exploration en vue d'une étude comparée Normandie/Bretagne des effets de la construction des éoliennes et des changements climatiques » (co-resp. : Nathalie Niquil et Tony Robinet) – *Pas de demande de renouvellement*

**10:30-11:00**                      **Pause-café**

11:00-11:20

**Axe transversal Communication chimique**

*Modérateurs : responsables d'axe : Joël Henry / Céline Zatylny-Gaudin*

11:00-11:10

« Etude de la communication chimique entre le crabe (*C. maenas*) et la sacculine (*S. carcini*) par une approche peptidomique/protéomique comparée de l'hémolymphe de crabes sacculinés versus non sacculinés » (co-resp. : Nicolas Rabet et Joël Henry) – *Renouvellement demandé*

11:10-11:20

« Détection et caractérisation des phéromones impliquées dans la reproduction sexuée chez les diatomées du genre *Pseudo-nitzschia* » (co-resp. : Juliette Fauchot et Céline Zatylny-Gaudin) – *Pas de demande de renouvellement*

11:20-11:40

**Atelier méthodologique Cultures cellulaires**

*Modérateurs : responsables d'atelier : Stéphanie Bordenave / Clothilde Heude / Christophe Lelong*

*5 min d'exposé + 5 min de discussion*

11:20-11:30

« Caractérisation moléculaire de cellules souches en culture et tri cellulaire chez deux modèles aquatiques non-conventionnels, la seiche et la petite roussette » (co-resp. : Sébastien Baratte, Aude Gautier et Aude Andouche) – *Renouvellement demandé*

11:30-11:40

« Faisabilité de mesures en impédancemétrie sur des cellules de modèles aquatiques non-conventionnels » (co-resp. : Clothilde Heude et Stéphanie Bordenave) – *Renouvellement demandé*

11:40-11:50

**Atelier méthodologique Génomique fonctionnelle**

*Modérateurs : responsables d'atelier : Guillaume Rivière / Pascal Jean Lopez*

11:40-11:50

« CHICOS : Caryotype Hultre CrassOStrea. Etablissement de caryotypes chez les huîtres *C. gigas* et *C. rhizophorae* et développement des techniques de marquage » (co-resp. : Christophe Lelong et Etienne Bézault) – *Renouvellement demandé*

11:50-12:20

**Discussion générale sur les projets**

*Modérateurs : Pascal Sourdain et Sylvie Dufour*

12:20-14:00

**Déjeuner (cantine de l'UPMC)**

## Mardi 19 janvier 2016, après-midi

Amphithéâtre Durand, Bâtiment Esclangon, UPMC

**SESSION 6**  
**14:00-15:00**

**DEMANDES DE NOUVEAUX PROJETS INTER-EQUIPES/INTER-SITES DANS LE CADRE DES PROGRAMMES TRANSVERSAUX DE L'UMR :**

*5 min d'exposé + 5 min de discussion*

**14:00-14:20**

### **Axe transversal Changements globaux**

*Modérateurs : responsables d'axe : Nathalie Niquil / Pascal Jean Lopez*

14:00-14:10

« Evaluation des effets biologiques de l'acide domoïque produit par les microalgues du genre *Pseudo-nitzschia* sur les mollusques » (co-resp. : Antoine Serpentini et Juliette Fauchot)

14:10-14:20

« Approche spatiale et fonctionnelle des composés organiques impliqués dans la synthèse coquillière de la seiche (*Sepia officinalis*) » (co-resp. Laure Bonnaud-Ponticelli, Pascal Jean Lopez)

**14:20-14:30**

### **Axe transversal Communication chimique et LIA EDIA**

*Modérateurs : responsables d'axes : Joël Henry / Céline Zatylny-Gaudin / Jean-François Renno*

14:20-14:30

« Communication chimique et contrôle du comportement reproducteur chez *Heterotis niloticus*. Utilisation de la vitellogénine localisée dans le mucus pour faciliter le sexage des reproducteurs, pour permettre la détermination du stade de maturité des femelles et faciliter la formation de couples » (co-resp. Joël Henry et Jésus Nuñez)

**14:30-15:00**

### **Discussion générale sur les projets**

*Modérateurs : Thierry Oberdorff et Sylvie Dufour*

**15:00-15:20**

**Pause**

**15:20-16:00**

**INFORMATIONS ET DISCUSSIONS GENERALES**

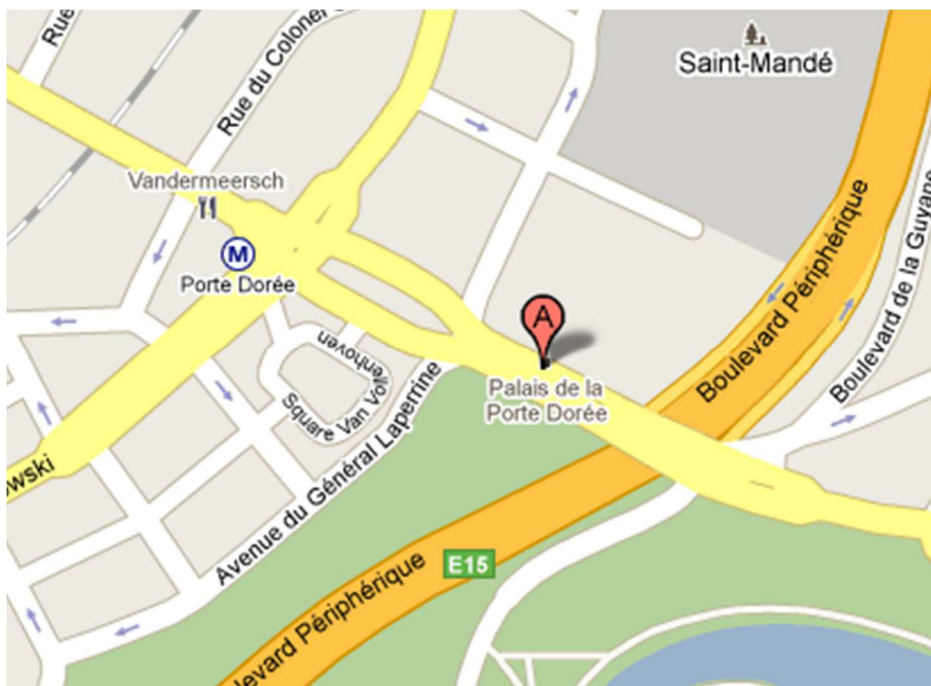
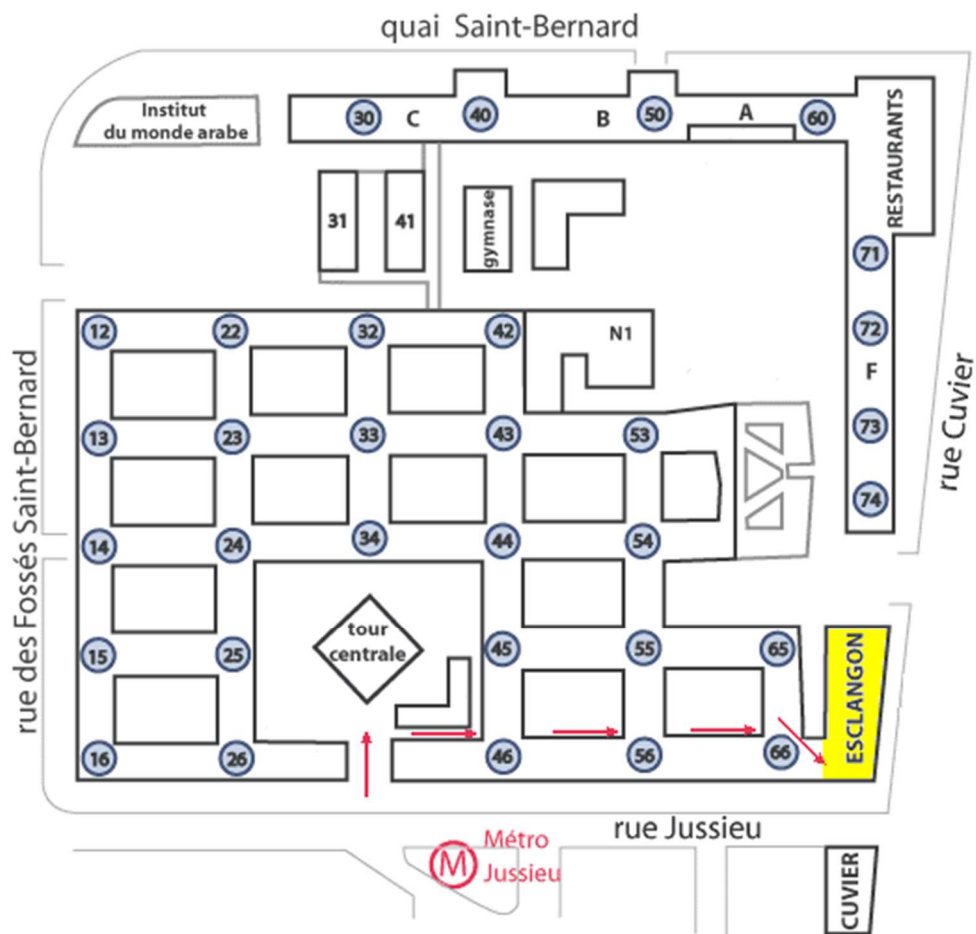
**16:00-17:00**

**POURSUITE DES DISCUSSIONS ET ECHANGES**

**17:00**

**Fin des journées**





### Aquarium Tropical du Palais de la Porte Dorée

293 avenue Daumesnil 75012 Paris – Tel. 01 53 59 58 60

### Transports en commun

métro : station Porte Dorée (ligne 8)

bus : 46

tramway : ligne T3a

station Vélib' 12032

## Session 1 : Highlights des équipes

### Etude du comportement chez *Arapaima gigas* par télémétrie radio et ultrasonique: du milieu naturel au milieu d'élevage

#### Equipe n°: 7

Présentateur : **Jesus NUNEZ**

E-mail : [jesus.nunez@ird.fr](mailto:jesus.nunez@ird.fr)

Cette approche s'inscrit dans la problématique du comportement reproducteur du pirarucu, *Arapaima gigas*, en vue d'une meilleure maîtrise de sa reproduction en captivité. Une première étude a été réalisée en milieu naturel a permis de comparer le comportement de mâles et femelles dans une grande lagune (40 km<sup>2</sup>) en Amazonie péruvienne (Laguna Imiria). Ce travail, réalisé par radio-télémétrie nous a permis de mettre en évidence une grande « sédentarité » de l'espèce et une relative petite taille de son domaine vital «home range ». Une deuxième étude a ensuite été initiée en milieu d'élevage (étang de 4500 m<sup>2</sup>) cette fois-ci par télémétrie ultrasonique sur 10 mâles et 10 femelles dans le but d'étudier plus en détail le comportement en captivité et la dynamique de formation de couples, susceptibles de se reproduire ensuite dans l'étang. Les résultats sont en cours d'analyse mais ils confirment la « territorialité » du couple une fois formé et une grande interaction entre les deux partenaires.



Alevin d'*Arapaima* à 1 mois d'âge. © IRD/J. Nunez

## Session 1 : Highlights des équipes

### Activité et diversité des procaryotes planctoniques dans la dynamique de dégradation de macroalgues

#### Equipe n°: 6

Présentatrice : **Dominique LAMY**

E-mail : [dlamy@mnhn.fr](mailto:dlamy@mnhn.fr)

L'activité et la diversité des procaryotes planctoniques dans la dynamique de dégradation de deux espèces de macroalgues ont été suivies en microcosmes et comparées à des expériences sans macroalgue. Les macroalgues contribuent significativement à la formation du pool de matière organique (MO) des écosystèmes marins côtiers et sont donc susceptibles de constituer une ressource majeure dans les réseaux trophiques pélagiques. Les objectifs étaient de déterminer (i) si la dégradation des macroalgues conduit à des apports de MO de quantité et qualité différentes pour les procaryotes et (ii) dans quelle mesure ces différents apports de MO conduisent à des assemblages et des métabolismes différents des communautés procaryotiques. Les analyses des acides gras et des sucres de la MO particulaire (MOP) montrent des différences significatives de la qualité et de la quantité de MOP entre les traitements. La MOP générée dans les microcosmes avec macroalgues a conduit à un développement bactérien plus important que dans les microcosmes contrôle et une forte stimulation des activités enzymatiques de dégradation. Les procaryotes dégradent activement la MOP apportée au milieu par les macroalgues et la transforment en carbone organique dissous (COD), à priori non totalement labile puisque la concentration en COD augmente dans les traitements avec macroalgues alors qu'elle reste faible et constante dans les contrôles. Les différences d'activités enzymatiques pourraient s'expliquer par des communautés procaryotiques de structures différentes entre les traitements et au cours du temps. Ces résultats montrent que la nature et la qualité de la MO sont des facteurs structurants pour les assemblages des procaryotes et leurs capacités métaboliques.

Mots-clés : activités enzymatiques, diversité bactérienne, MOP, acides gras, sucres



## Session 1 : Highlights des équipes

**Bioindicateurs du milieu marin : utilisation des macroalgues comme outil d'évaluation de la qualité biologique des eaux marines. Réponse à une problématique d'échouages d'algues (S. Lemesle, A-Marie Rusig, I. Mussio)**

**Equipe n°: 5**

Présentateur : **Pascal CLAQUIN**

E-mail : [pascal.claquin@unicaen.fr](mailto:pascal.claquin@unicaen.fr)

Les résultats présentés dans ce highlight sont une partie des travaux de la thèse de S. Lemesle. Le potentiel de bioindication de la qualité des eaux côtières par les macroalgues a été évalué dans un contexte d'échouages d'algues sur les côtes du Calvados. Un suivi *in situ* à fine échelle des signatures isotopiques ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) et du c contenu azoté de six espèces algales a été réalisé sur les deux sites d'échouage en 2012 et 2013. Contrairement aux points de référence «influence océanique» (archipel de Chausey) et fortement anthropisé (estuaire de la Seine), une variation saisonnière de la signature isotopique  $\delta^{15}\text{N}$  a été mise en évidence sur les deux sites d'étude avec des  $\delta^{15}\text{N}$  faibles au printemps suggérant plutôt une entrée d'azote agricole et des  $\delta^{15}\text{N}$  élevés en fin d'été liés à une entrée d'azote régénéré provenant de la décomposition des biomasses algales échouées. La comparaison *in situ* du  $\delta^{15}\text{N}$  des différentes espèces algales couplée à une étude *in vitro* ont permis de montrer la pertinence de l'utilisation de chaque espèce

## Session 1 : Highlights des équipes

### Où en est-on des questions sur l'utilisation des indices ENA (Ecological Network Analysis) comme indicateurs de santé des écosystèmes littoraux ?

#### Equipe n°: 5

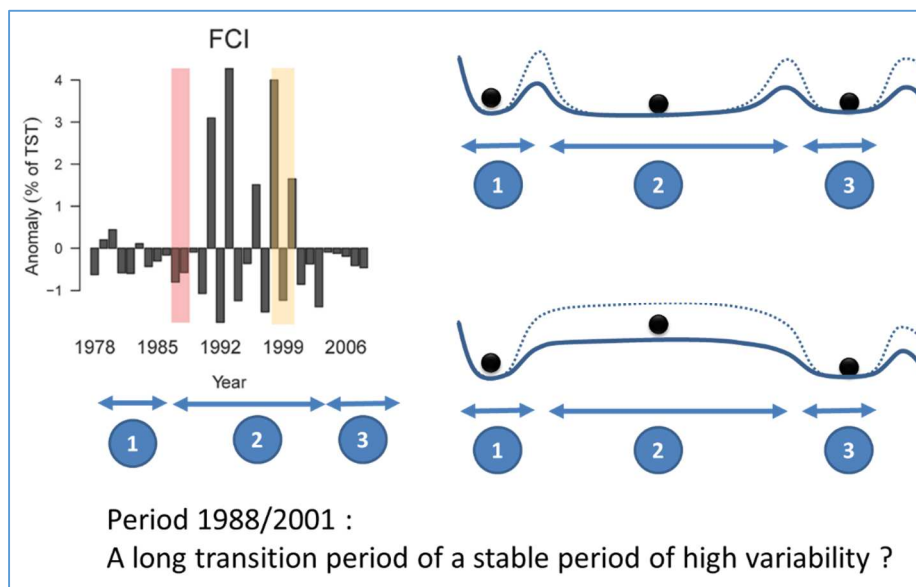
Présentatrice : **Nathalie NIQUIL**

E-mail : [nathalie.niquil@unicaen.fr](mailto:nathalie.niquil@unicaen.fr)

La conclusion de l'exposé sera : « Rien n'est simple ! Tout se complique ! »

Non seulement on a un mal fou à distinguer les pressions directes (construction de Port2000 au Havre par exemple) des pressions liées aux changements climatiques (marinisation de la Seine, effet d'un shift climatique en Méditerranée) sur les indices de l'analyse des réseaux (e.g. recyclage, omnivorie, redondance, etc.), mais en plus, il semble que le jeu des changements climatiques en question jouent moins sur la moyenne des valeurs, que sur leur variance. Cette question soulève l'intérêt de suivre ces indices, non pas selon le mode proposé pour la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin par le MEDDE ou l'OSPAR de feu vert/rouge avec des valeurs objectifs, mais de les proposer comme « indicateurs de surveillance » donnant une idée de la caractérisation du fonctionnement du réseau trophique plus que de son état de santé.

Pour arriver là, je me baserai sur les travaux réalisés dans le cadre de deux projets (GIP SA AntropoSeine et le projet 7eme PCRD DEVOTES).



*Evolution de l'indice de recyclage de Finn (FCI) au cours des années dans l'écosystème étudié en Mer Ionienne et interprétations possibles en termes de bassins d'attractions.*

*Les barres rose et jaune correspondent à des périodes présumées de shift climatique.*

## Session 1 : Highlights des équipes

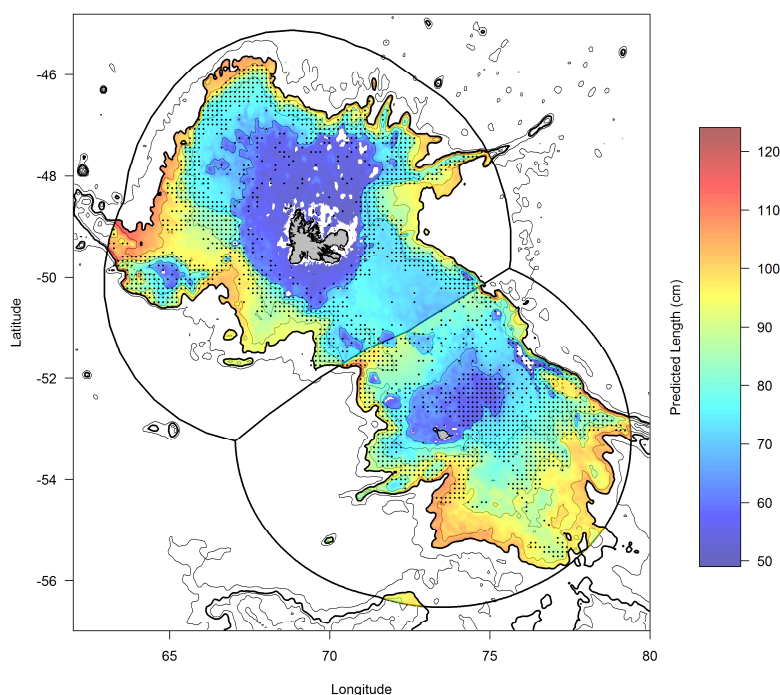
### Habitats des poissons marins au niveau du Plateau de Kerguelen (océan Austral)

#### Equipe n° : 4

Présentateur : **Guy Duhamel**

E-mail : [duhamel@mnhn.fr](mailto:duhamel@mnhn.fr)

Les séries de données acquises sur les poissons marins au niveau et au large du Plateau de Kerguelen (secteur indien de l'océan Austral), tant issues des campagnes océanographiques et halieutiques que lors du monitoring des activités de pêche, permettent des avancées significatives en écorégionalisation. Elles contribuent aussi à proposer des mesures de conservation pour les écosystèmes concernés. En 2015 des résultats originaux ont été obtenus sur les populations d'espèces démersales (légine australe *Dissostichus eleginoides*, poisson des glaces *Champscocephalus gunnari*) et pélagiques (poissons-lanternes Myctophidae).



Prediction map of female Patagonian toothfish median total length when caught with commercial longlines by the French fishery in the French EEZ and Australian fishery in the Australian EEZ. Bathymetry contours (-400m, -1000m, -2000m and -3000m) are displayed in black. The -2300 m isobath corresponding with the lower limit of the fishing depth is highlighted in bold. Dots correspond to fishing locations. (Peron *et al.*, 2015)



## Session 1 : Highlights des équipes

### Evaluation de l'impact de l'exploitation minière dans l'océan profond – Implication de l'équipe 3 dans le programme européen MIDAS

#### Equipe n°: 3

Présentatrice : **Juliette RAVAUX**

E-mail : [juliette.ravaux@upmc.fr](mailto:juliette.ravaux@upmc.fr)

L'International Seabed Authority (ISA) a récemment autorisé l'exploration de zones dans l'Océan Profond susceptibles d'être l'objet d'exploitation minière. L'équipe AMEX (équipe 3) fait partie du groupe d'experts de l'océan profond du programme européen MIDAS (Managing Impacts of Deep-sea Resource exploitation), qui évalue l'impact environnemental de l'exploitation minière sur les écosystèmes hydrothermaux profonds. Dans le cadre de ce programme, nous étudions les capacités sensorielles des crevettes hydrothermales, car la dispersion de rejets miniers dans la colonne d'eau est susceptible de perturber le comportement de ces espèces prédominantes sur les sites hydrothermaux concernés. Nous étudions par ailleurs (en collaboration avec l'Université d'Aveiro) leur réponse moléculaire à une exposition prolongée à des solutions de Cuivre, un rejet probable (et toxique) de l'exploitation minière. Et enfin, nous étudions la flexibilité de l'association symbiotique des moules hydrothermales et de leurs bactéries, en fonction des variations des composants inorganiques environnementaux. Les instruments pressurisés développés dans l'équipe (aquarium IPOCAMP et cellule de récolte PERISCOP) et à l'aquarium d'Océanopolis (AbyssBox) sont ainsi mis à contribution, afin de permettre l'étude sur des organismes vivants.



## Session 1 : Highlights des équipes

### Évolution de la famille des hormones glycoprotéiques hypophysaires et de leurs récepteurs

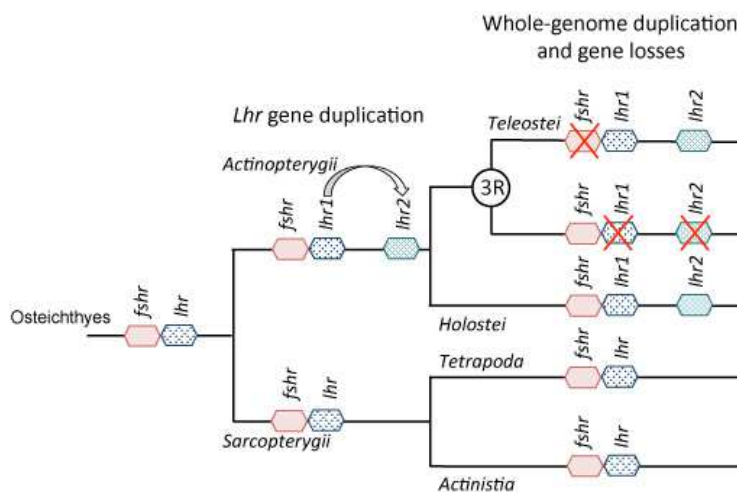
#### Equipe n°: 2

Présentatrice : **Gersende MAUGARS**

E-mail : [maugars@mnhn.fr](mailto:maugars@mnhn.fr)

La famille des hormones glycoprotéiques hypophysaires des vertébrés regroupe l'hormone lutéinisante (LH), l'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone thyroïdienne (TSH). Ce sont des hétérodimères constitués d'une sous-unité alpha commune et d'une sous-unité beta spécifique. La FSH et la LH contrôlent la fonction gonadique et la TSH la fonction thyroïdienne, par l'activation de récepteurs homologues (LHR, FSHR et TSHR), de la famille des GPCR (récepteurs couplés aux protéines G). Notre projet porte sur l'impact des événements de duplication sur ces deux familles géniques, par une approche de phylogénie moléculaire et de synténie. Deux événements de duplication du génome (1R et 2R) ont eu lieu à la base des vertébrés et un troisième (3R) à la base des téléostéens. Lhb et FSHb seraient issues de la 2R. La 3R n'aurait pas eu d'impact sur le nombre de gonadotropines chez les téléostéens du fait de la perte de paralogues consécutive à la 3R. Une deuxième TSHb serait issue de la 2R et conservée uniquement chez les chondrichthyens et les sarcoptérygiens basaux. Une troisième TSHb serait issue de la 3R et conservée chez la majorité des téléostéens. Concernant les récepteurs, certains téléostéens présentent deux LHR et deux TSHR. Alors que les deux TSHR seraient issus de la 3R, les deux LHR proviendraient d'une duplication locale survenue chez les actinoptérygiens avant l'émergence des téléostéens. Cette étude démontre la diversification et les différentes origines des paralogues des gènes des hormones glycoprotéique et de leurs récepteurs.

Maugars et al. 2014. PloS ONE. 9, e111361. Maugars and Dufour, 2015. PloS ONE. 10, e0135184



Origin and evolution of duplicated LH receptors in actinopterygians.



## Session 1 : Highlights des équipes

### Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur le sexe de l'huître creuse *Crassostrea gigas* sans jamais oser le demander...

#### Equipe n°: 2

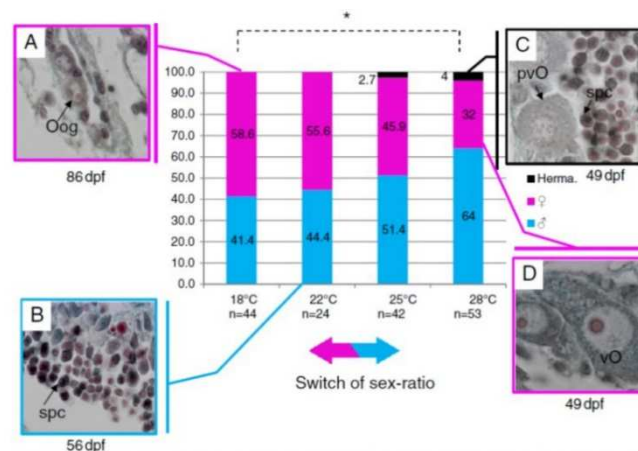
Présentatrice : Anne-Sophie MARTINEZ

E-mail : [anne-sophie.martinez@unicaen.fr](mailto:anne-sophie.martinez@unicaen.fr)

S'il est un mécanisme physiologique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* qui illustre sa plasticité, c'est bien le déterminisme de son sexe ! Il ne pouvait d'ailleurs pas en être autrement chez ce mollusque bivalve à hermaphrodisme successif irrégulier et à cycle de reproduction annuel.

La plasticité de ce mécanisme physiologique s'illustre chez l'huître à plusieurs niveaux. Dès sa 1<sup>ère</sup> année de vie, l'huître peut se différencier en mâle ou femelle et le sex-ratio au sein des familles peut être biaisé en faveur d'un sexe ou l'autre selon les cas, une observation qui remet en cause le dogme qui assure que l'huître est un animal à tendance protandre. Les années suivantes, l'huître changera ou non de sexe au gré de son hermaphrodisme irrégulier (Dégremont et al., résultats non publiés). De plus, le 1<sup>er</sup> déterminisme du sexe comme les suivants sont sous le contrôle d'une balance d'expression moléculaire entre des facteurs mâles et femelles (Santerre et al., 2014). Dans ce contexte et en l'absence de gène majeur et de chromosomes sexuels caractérisés, l'hypothèse actuelle suggère que le déterminisme sexuel de l'huître serait oligogénique, c'est-à-dire sous le contrôle de plusieurs gènes en nombre restreint. Par ailleurs, des animaux triploïdes induits montrent des sex-ratios biaisés par rapport à des animaux diploïdes, suggérant un effet du nombre de chromosomes (et donc d'allèles) sur le déterminisme sexuel de *C. gigas*. Enfin, la plasticité du déterminisme sexuel de l'huître est aussi liée à sa vie sédentaire en milieu ouvert. Ainsi, des températures élevées favorisent l'expression de facteurs mâles lors du 1<sup>er</sup> déterminisme sexuel, biaisant alors le sex-ratio dans le même sens (Santerre et al., 2013). La détermination du sexe serait aussi modulée via des régulations épigénétiques, comme celles qui impliquent des ARN anti-sens naturels (Santerre et al., 2012).

La plasticité de son déterminisme du sexe sera-t-elle un atout pour *C. gigas* dans un contexte de changement global ? Pourra-t-elle être maîtrisée en aquaculture, notamment pour contrôler le sex-ratio des géniteurs en éclosion ? Ces questions restent ouvertes ...



Histogramme des sex-ratios de juvéniles d'huître *C. gigas* à 18, 22, 25 et 28°C. Le sex-ratio est biaisé en faveur des femelles à 18 et 22°C alors qu'il l'est en faveur des mâles à 25 et 28°C. Ces résultats suggèrent un déterminisme sexuel environnemental chez l'huître.

## Session 1 : Highlights des équipes

### Etude des systèmes d'adhésion de vers marins appartenant à la classe des polychètes : vers la production de colles biologiques adaptées aux environnements humides

#### Equipe n°: 1

Présentateur : **Jean-Philippe BUFFET**

E-mail : [jean-philippe.buffet@mnhn.fr](mailto:jean-philippe.buffet@mnhn.fr)

Dans le cadre d'une approche biomimétique, nous nous intéressons aux bio-adhésifs naturels présentant de hautes performances en milieu humide, particulièrement intéressant sur le plan industriel. Les bio-adhésifs sont retrouvés chez une multitude d'espèces de bactéries, de champignons, de protistes, de végétaux et d'animaux. Parmi les organismes sur lesquels l'équipe travaille, les vers tubicoles marins appartenant à la classe des polychètes vivent dans des tubes protecteurs qu'ils fabriquent par assemblage de grains de sable, de morceaux de coquille et grâce à une colle à base de protéines, de polysaccharides et d'ions. Certaines espèces vivant de manière isolée vont former des tubes flexibles alors que d'autres vont former des tubes plus rigides ; d'autres espèces encore forment des tubes rigides mais vivent en colonies et construisent ainsi de véritables récifs. Dans ce contexte, en collaboration avec l'équipe de R&D « Produits, Systèmes et Solutions » de Saint-Gobain Isover nous développons des approches visant à identifier et à caractériser les molécules d'adhésion de vers tubicoles marins, et à étudier leurs transférabilités vers des processus industriels. L'objectif principal de notre projet est d'identifier les domaines et motifs moléculaires impliqués dans l'adhésion de plusieurs espèces de polychètes tubicoles marins (e.g., *Sabellaria alveolata*, *Lanice conchilega*, *Phragmatopoma caudata*), provenant d'écosystèmes différents (tempérés et tropicaux) par des approches de génomique comparative.

Mots-clés : bio-adhésif, environnements humides, vers tubicoles marins.



**Figure 1** : Image d'un tube de *S. alveolata*, avec une portion néo-construite avec des billes de verre.

## Session 2 : Exposés

### Emergence d'un agent pathogène de poisson : une menace pour l'industrie et la biodiversité en Europe

#### Equipe n°: 7

Présentateur : **Rodolphe GOZLAN**

E-mail : [rudy.gozlan@ird.fr](mailto:rudy.gozlan@ird.fr)

Un parasite de poisson du nom de *Sphaerothecum destruens* pourrait décimer les populations de poisson en Europe et impacter sérieusement les aquacultures de poisson. Le parasite est porté par le goujon Asiatique *Pseudorasbora parva*, espèce invasive de poissons d'eau douce qui s'est établie dans de nombreuses rivières européennes et au-delà.

Rodolphe Gozlan de l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement) à Paris et ses collaborateurs en Turquie et au Royaume-Uni ont échantillonné six espèces de poissons d'eau douce et marine dans un bassin versant en Turquie dans la partie invasive, au sud-est de l'aire de distribution de *P. parva*. Toutes ces espèces étaient hautement infectées avec *S. destruens*. Depuis l'introduction de *P. parva* dans cette zone, l'abondance des captures a baissé de 80 à 90 pourcent en trois ans.

Une des espèces infectées est le bar Européen *Dicentrarchus labrax*, élevé en eau saumâtre et poisson d'une grande importance économique : son industrie en Méditerranée générant annuellement un revenu de 700 millions d'euros

**Evidence of threat to European economy and biodiversity following the introduction of an alien pathogen on the fungal–animal boundary.** Ercan D., Andreou D., Sana S., Öntaş C., Baba E., Top E., Karakuş U., Tarkan A.S., Gozlan Rodolphe. *Emerging Microbes & Infections - Nature*, 2015, 4, e52; doi:10.1038/emi.2015.52



Goujon Asiatique *Pseudorasbora parva* © R.E. Gozlan

## Session 2 : Exposés

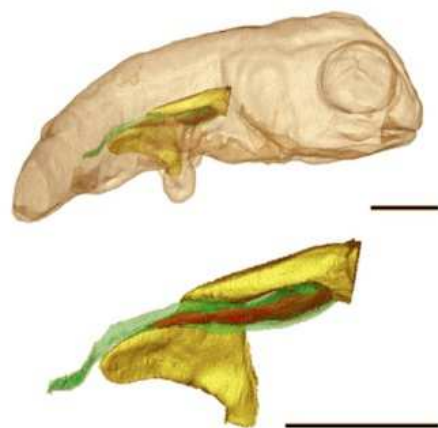
### Le Cœlacanthe possède un poumon !

#### Equipe n° : 4

Présentateur : **François MEUNIER**

E-mail : [meunier@mnhn.fr](mailto:meunier@mnhn.fr)

Dans les ouvrages généraux consacrés au coelacanthe, *Latimeria chalumnae*, l'organe graisseux qui caractérise cet animal, et qui occupe toute une partie de la cavité abdominale, est considéré comme une vessie natatoire régressée par certains scientifiques notamment anglo-saxons (= « swimming bladder »). Seuls des chercheurs du Muséum ont parlé d'un poumon vestigial dans leur atlas de 1978. Or une étude comparative franco-brésilienne\*, menée au Muséum à l'aide de la tomographie-3D sur des stades de développement variés, montre la présence d'une ébauche pulmonaire sur la face ventrale de l'œsophage chez l'embryon du cœlacanthe. Cette ébauche grandit ensuite au cours du développement de l'animal mais elle est l'objet d'une allométrie négative pour finalement former chez l'adulte le fameux « diverticule oesophagien ». Donc en aucun cas l'organe graisseux ne peut être interprété comme une vessie natatoire transformée ; en revanche le diverticule oesophagien n'est autre qu'un poumon vestigial.



**Illustration:** Reconstruction tridimensionnelle du complexe pulmonaire chez un embryon de cœlacanthe de 4 cm (LT); en jaune le tube digestif, en rouge l'ébauche pulmonaire, en vert l'organe graisseux. (échelle = 5 mm)

\* Allometric growth in the extant coelacanth lung during ontogenetic development  
Camila Cupello, Paulo M. Brito, Marc Herbin, François J. Meunier, Philippe Janvier, Hugo Dutel & Gaël Clément. Nature communications 6:8222, septembre 2015 | DOI: 10.1038/ncomms9222

## Session 2 : Exposés

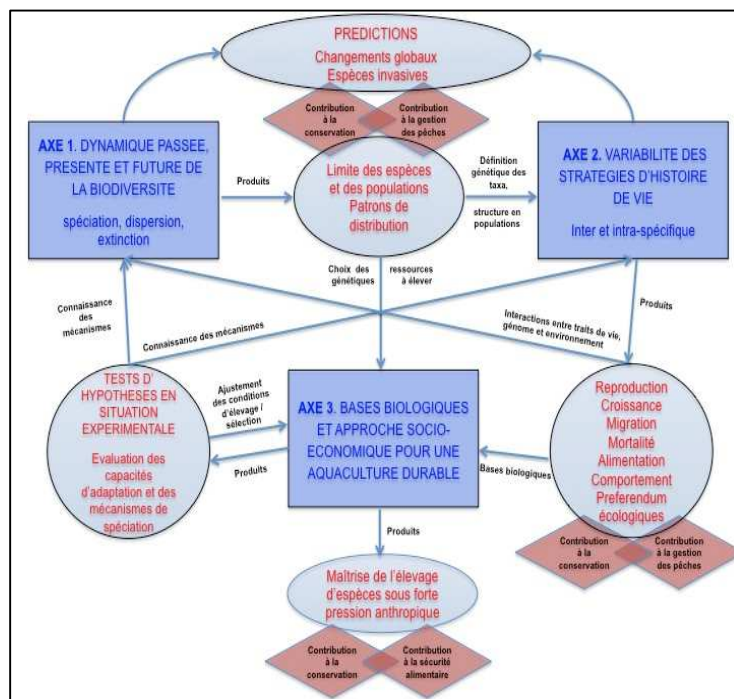
### LMI EDIA « Evolution et Domestication de l'Ichtyofaune Amazonienne » (en cours d'arbitrage)

Equipe n°: 7

Présentateur : Jean-François RENNO

E-mail : [Jean-Francois.Renno@ird.fr](mailto:Jean-Francois.Renno@ird.fr)

Après une première phase nécessairement plutôt descriptive, la seconde phase du LMI EDIA s'intéressera davantage à la compréhension des processus (spéciation, dispersion, extinction, adaptation) et au développement d'une approche prédictive de l'impact des changements climatique et autres changements anthropiques sur la biodiversité des espèces de poissons en Amazonie et à l'échelle néotropicale. Les principales retombées appliquées seront des prédictions des effets des changements **climatiques et anthropiques sur les communautés de poissons (perte de richesse, perte de fonctionnalité, érosion génétique)** et l'élaboration des bases biologiques pour le développement durable de la pisciculture et de la pêche. Pour mener à bien une approche de biologie intégrative le LMI EDIA continuera à développer une approche en trois axes en interactions : AXE 1, Dynamique Passée, Présente et Future de la Biodiversité ; AXE 2, Variabilité des Stratégies d'Histoire de Vie et AXE 3, Bases Biologiques de la Domestication. Chacun des trois axes produira des résultats alimentant les recherches des deux autres et les modèles prédictifs.



*Intégration des 3 axes de recherche du LMI EDIA à travers leurs produits partagés (dans les ellipses) et leurs retombées (dans les losanges)*

## Session 2 : Exposés

### OHM Panamax Ports Caribéens

#### Equipe n°: 1

Présentateur : **Pascal Jean LOPEZ**

E-mail : [pjlopez@mnhn.fr](mailto:pjlopez@mnhn.fr)

Le nouveau canal Panaméen, unique canal de transit de l'Océan Atlantique à l'Océan Pacifique, vient de s'élargir afin de s'adapter à l'essor continu du transport maritime qui est associé à une concentration des armements, un gigantisme de la taille des navires et une croissance de l'activité de transbordement.

Suite à sa création en 2012, le Grand Port Maritime (GPM) de Guadeloupe a mis en place un projet d'expansion du terminal de Jarry-Baie Mahault, comprenant des étapes de dragage, de comblement, de viabilisation et de construction de nouveaux quais. Ces évolutions qui ont pour ambition de créer un port de transbordement de niveau régional et international dans la Caraïbe Sud, permettront de développer et de diversifier les activités maritimes tout en structurant le réseau et favorisant la compétitivité des GPM des DOM face à l'évolution du commerce maritime international.

L'extension du GPM dans le petit cul de sac marin et autour de la ville de Pointe-à-Pitre, pose dans le paysage socio-culturel de la Guadeloupe des questions d'intégration et d'acceptabilité, notamment de la part des populations riveraines et de la filière pêche. Des inquiétudes et des controverses existent sur l'équité des répercussions économiques et le dimensionnement du projet. L'OHM propose d'observer et d'analyser les interactions homme-milieu et les enjeux d'innovations socio-économiques et écologiques au sein de ce territoire insulaire. La question de la préservation et de la restauration de certains écosystèmes côtiers, situés aux abords des sites de clapage ou des nouveaux terminaux, est aussi centrale.





## Session 2 : Exposés

### L'initiative éthique pour la biosphère au Muséum

#### Equipe n°: 7

Présentateur : **Boris LEROY**

E-mail : [boris.leroy@mnhn.fr](mailto:boris.leroy@mnhn.fr)

Le 19 juin 2014, le Muséum National d'Histoire Naturelle a ratifié la déclaration sur l'éthique pour la biosphère en partenariat avec différentes institutions canadiennes. Fondée sur le constat de la dégradation de la biosphère due aux activités humaines, cette déclaration constitue un engagement moral de notre institution à l'égard des sociétés. Le Muséum a donc entamé une démarche éthique dont l'objectif est de favoriser une pratique des métiers du Muséum respectant les valeurs morales énoncées dans la déclaration. Je présenterai la déclaration sur l'éthique pour la biosphère, et la démarche basée sur le volontariat qui concerne tous les personnels du Muséum, quel que soit le métier effectué.

#### Illustration



## Session 3 : Présentations des demandes d'intégration à l'UMR

### Diversité spécifique et diversité génétique des mammifères marins dans des milieux ciblés : description, analyse et recherche d'impacts des changements du milieu

Présentateur : **Jean-Luc JUNG**, MCU, Laboratoire BioGeMME, Université de Bretagne Occidentale, Brest

E-mail : [jung@univ-brest.fr](mailto:jung@univ-brest.fr)

Mes activités de recherche portent sur la caractérisation de la biodiversité marine et les évolutions de cette biodiversité face aux changements du milieu, d'origine anthropique ou non. Elles rejoignent ainsi certaines des problématiques majeures de l'UMR BOREA.

J'étudie particulièrement les mammifères marins, prédateurs supérieurs à longue durée de vie présentant de grandes capacités de déplacement pour la majorité d'entre eux, et considérés souvent comme des espèces indicatrices pertinentes de la qualité du milieu. J'utilise des approches d'écologie moléculaire dans le but de décrire et d'analyser de manière fine la biodiversité, aux niveaux spécifiques et intraspécifiques, de différentes espèces de cétacés et pinnipèdes; en ciblant notamment l'étude d'écosystèmes particuliers pour leur richesse et/ou leur forte utilisation par l'Homme. Mes travaux de recherche sont menés en collaboration avec des acteurs de terrain.

Grace à des collections de biopsies, j'ai étudié des polymorphismes de l'ADN nucléaire et mitochondrial chez la baleine à bosse (*Megaptera novaeangliae*) et chez le phoque gris (*Halichoerus grypus*), espèces aux modes de vie contrastés mais qui toutes deux montrent des niveaux de structuration génétique intraspécifique élevés. Ces structurations peuvent s'analyser et s'expliquer au moins en partie en regard d'un ensemble de paramètres, mêlant histoire ancestrale de l'espèce et comportement (notamment philopatrie), et impacts des variations du milieu, d'origine anthropique ou non, récentes ou plus anciennes.

Mais la taxonomie des mammifères marins est elle aussi complexe et sujette régulièrement à nouveautés. J'utilise des approches de type "barcoding de l'ADN", pertinentes pour dresser des listes d'espèces en complétant les identifications morphologiques, pour préciser des aires de répartition d'espèces peu connues (à l'exemple de la découverte de *Balaenoptera omurai* en Atlantique), et de mettre en évidence des espèces cryptiques (je participe actuellement à la mise en évidence d'une nouvelle espèce de baleines à bec). Ces listes ont pour vocation à s'intégrer dans des démarches de type « Observatoire » permettant la détection et la mise en évidence des impacts des variations du milieu, notamment d'origine anthropique.

Les Journées Scientifiques 2016 de l'UMR BOREA me donnent l'occasion de vous proposer de mener à l'avenir mes activités de recherche au sein de l'UMR BOREA, et l'intégrant et en m'y impliquant, particulièrement dans les projets de suivi de la biodiversité marine dans les Antilles (dont la biodiversité remarquable concerne aussi les mammifères marins) qui pourront participer au projet d'OHM "Panamax Ports Caraïbéens".



Phoques gris en mer d'Iroise. Photo JL Jung



Rorqual d'Omurai, spécimen échoué en Mauritanie en 2013 (premier spécimen trouvé en Atlantique, identifié par DNA barcoding). Photo Wim Mullié



## Session 3 : Présentations des demandes d'intégration à l'UMR

### **Écologie évolutive des interactions hôtes/parasites : des moustiques aux organismes marins**

Présentateur : **Christophe BOETE**, CR, IRD, Marseille

E-mail : [cboete@gmail.com](mailto:cboete@gmail.com)

En combinant épidémiologie, écologie évolutive et parasitologie mes travaux de recherche, théoriques et expérimentaux ont concerné les aspects évolutifs des interactions hôtes/parasites. Mise à part une meilleure compréhension des interactions moustiques/ Plasmodium, mon objectif était également d'apporter des éléments de réponse quant à l'utilisation possible de moustiques génétiquement modifiés pour le contrôle du paludisme. Dans ce registre je me suis également penché sur les aspects sociaux et éthiques de l'utilisation éventuelle de technologies innovantes pour le contrôle de maladies vectorielles (paludisme, dengue...), certaines soulevant des controverses y compris dans le milieu scientifique. Plus récemment je me suis également penché sur les liens entre biodiversité et santé via notamment une enquête auprès de chercheurs travaillant sur les chauves-souris.

J'ai l'intention depuis quelques temps de changer de sujets de recherche tout en restant sur les thèmes de la biologie évolutive et de l'écologie des interactions hôte/ parasite. Dans cette optique je vais présenter quelques pistes à la fois sur les diadromes et sur les invertébrés marins sur les questions liant changements environnementaux, adaptation et parasitisme.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites

### Projet Anguilles Américaines des Caraïbes, CARANG

#### Axe transversal de BOREA

- *Diadromie/dispersion (coord : P. Keith/ E. Feunteun)*

#### Projet inter-équipes et inter-sites

**Co-responsable 1 :** Feunteun Eric, Equipe 5, Dinard, [feunteun@mnhn.fr](mailto:feunteun@mnhn.fr)

**Co-responsable 2 :** Dominique Monti, Guadeloupe, Equipe 4, [dominique.monti@univ-ag.fr](mailto:dominique.monti@univ-ag.fr)

**Mots Clés :** Anguillidae, *Anguilla rostrata*, Analyse microstructurale des otolithes, génétique des populations (5 max)

**Projet :** L'anguille américaine possède l'une des plus larges aires de répartition parmi le genre *Anguilla*: elle est répandue de l'Islande au golfe du Mexique et aux Caraïbes. Elle est actuellement devenue très rare à absente des côtes des Guyanes et du Brésil, les petites Antilles apparaissant donc comme la limite sud de son aire de répartition. L'espèce est unanimement considérée panmictique à l'instar de l'anguille européenne. La zone de ponte supposée est localisée à l'ouest de la mer des Sargasses à quelques 2000 km vers l'est des côtes de Floride.

Cependant, toutes les études réalisées jusqu'à présent et relatives à la génétique de population et à l'écologie des migrations portent sur le nord de l'aire de distribution des côtes est de la Floride jusqu'au Saint Laurent. Les anguilles de l'Islande ont été particulièrement étudiées parce qu'elles bénéficient d'un statut particulier puisqu'elles sont en sympatrie avec l'espèce européenne et des hybrides y sont reportés. En revanche, les anguilles du Golfe du Mexique et des Caraïbes n'ont jamais été utilisées pour les études biogéographiques. Font-elles partie de la même population ? Les temps de transport sont-ils différents de celles des écosystèmes du nord de l'aire de répartition ? Ces questions restent actuellement en suspens et méritent d'être abordées. En effet, la zone de ponte localisée dans l'ouest de la mer des Sargasses favorise la dispersion des larves leptocéphales vers l'ouest où elles sont reprises par le puissant courant de Floride qui les transporte vers le nord le long des côtes est américaines jusqu'au golfe du Saint Laurent. Certaines larves leptocéphales sont piégées dans le Gulf stream et transportées vers le nord-ouest jusqu'en Islande et même probablement sur les côtes européennes puisqu'une introgression de l'anguille européenne par l'anguille américaine a été mise en évidence par les travaux de Wiegloss *et al.* (2014). Par ailleurs, la présence d'anguilles dans le Golfe du Mexique atteste que tous les leptocéphales ne sont pas transportés vers le nord par le courant de Floride et sont orientés vers le sud d'où ils pénètrent dans le Golfe du Mexique pour être ensuite orientés vers les côtes continentales et insulaires par les gyres océaniques.

La compréhension des mécanismes de dispersion peut s'appréhender au travers l'étude de la partie centrale des otolithes d'individus capturés en cours d'eau correspondant à la phase

larvaire marine. La structure génétique de population peut aussi être déduite par l'utilisation de marqueurs moléculaires déjà utilisés en routine pour les études de génétique des populations du genre *Anguilla*.

Du point de vue de la conservation, les anguilles sont présentes dans les Antilles françaises notamment en Martinique (Fiévet et al. 1999 ; 2001a et b) mais il semble que la population ait fortement décliné dans les dernières années, à l'instar de l'ensemble de la population d'anguilles américaine et de l'anguille européenne.

Le présent projet est une étude de faisabilité d'une étude plus vaste portant sur les anguilles des Caraïbes pouvant être menée au niveau de l'UMR. Il s'agit dans un premier temps d'initier ce travail en collaboration étroite entre les sites de Dinard et de Guadeloupe et entre des chercheurs de l'équipe 4 et de l'équipe 5. En 2015 les travaux suivants ont été réalisés :

- 1) Echantillonnage en Guadeloupe dans les parties aval des cours d'eau.
- 2) Acquisition de civelles d'Haïti.
- 3) Analyse des traits de vie des anguilles de Guadeloupe (ageage / otolithométrie, maturité, condition).

### **Demande de renouvellement pour 2016**

Ces travaux seront réalisés en collaboration entre E. Feunteun, E. Bezault et D. Monti.

Afin de poursuivre les travaux, nous avons financé, sur contrats de recherche, le stage de M2 de Laura Desclos, qui commence début Janvier 2016. Son stage a 3 objectifs:

- Compléter l'échantillon d'anguilles de Guadeloupe en janvier 2016 afin de collecter entre 10 et 20 anguilles américaines supplémentaires.
- Analyse de l'histoire de vie. Les traits de vie des anguilles subadultes seront analysés suivant le protocole mis au point à l'occasion du protocole EELIAD. Des échantillons de muscles seront prélevés pour des analyses d'isotopie. L'âge à la capture sera estimé par otolithométrie. L'histoire de vie larvaire sera déduite de l'analyse microstructurale et microchimique du centre de l'otolithe des anguilles de Guadeloupe et des civelles de Haïti.
- Analyse génétique. Le statut de la population des anguilles des Caraïbes sera analysé par des méthodes de génétiques récentes (ie Gagnaire *et al.* 2011, Wielgloss *et al.* 2014).

### **Planning du projet :**

Janvier. Echantillonnage en Guadeloupe : Dominique Monti, Laura Desclos

Février. Analyse des traits de vie (dissections, préparation échantillons pour isotopie). Laura Desclos (Guadeloupe).

Mars-Mai, Otolithométrie: 30 otolithes maximum pour l'estimation de l'âge et des traits de vie larvaire. Des analyses exploratoires en micro-chimie seront réalisées avec la Nanosims du MNHN. L. Desclos, E. Feunteun et L. Virag (Dinard).

Génétique. L. Desclos et E. Bezault. Ces travaux pourront être réalisés en collaboration avec T Wirth et A Gagnaire (Université Montpellier)

### **Budget :**

Otolithométrie: 1500 euros

Les analyses génétiques seront financées sur conventions.

### Références citées.

- Fiévet, E., Bonnet-Arnaud, P., and Mallet, J.-P. 1999. Efficiency and sampling bias of electrofishing for freshwater shrimp and fish in two Caribbean streams, Guadeloupe Island. *Fisheries Research*, 44: 149-166.
- Fiévet, E., Dolédec, S., and Lim, P. 2001a. Distribution of migratory fishes and shrimps along multivariate gradients in tropical island streams. *Journal of Fish Biology*, 59: 390-402.
- Fiévet, E., Tito de Morais, L., Tito de Morais, A., Monti, D., and Tachet, H. 2001b. Impacts of an irrigation and hydroelectric scheme in a stream with a high rate of diadromy (Guadeloupe, Lesser Antilles): Can downstream alterations affect upstream faunal assemblages? *Archiv für Hydrobiologie*, 151: 405-425.
- Gagnaire et al. 2011 The Genetic Consequences of Spatially Varying Selection in the Panmictic American Eel (*Anguilla rostrata*). *GENETICS Impact Factor: 5.96* · DOI: 10.1534/genetics.111.134825 · Source: PubMed
- Wielgoss et al. 2014 Introgressive hybridization and latitudinal admixture clines in North Atlantic eels. *BMC Evolutionary Biology* 14:61.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes / inter-sites

### Structure génétique des populations et estimation de la durée de vie larvaire de *Stiphodon rutilaureus* (Gobioidei : Sicydiinae)

#### Axe transversal de BOREA

- *Diadromie/dispersion* (coord : P. Keith/ E. Feunteun)

#### Projet Inter-équipes / inter-sites

**Responsable :** Lord Clara, Equipe 4, site Paris, [claralord@mnhn.fr](mailto:claralord@mnhn.fr)

Autres participants : Berland Sophie, Equipe 1, Paris, [berland@mnhn.fr](mailto:berland@mnhn.fr) ; Keith Philippe, Equipe 4, Paris, [keith@mnhn.fr](mailto:keith@mnhn.fr) ; Feunteun Eric, Equipe 5, Dinard, [feunteun@mnhn.fr](mailto:feunteun@mnhn.fr) ; Hautecœur Mélyne, Equipe 4, [hmelyne@mnhn.fr](mailto:hmelyne@mnhn.fr) ; Stagiaires licence 3 : Noémie Valenza-Troubat et Homère Monteiro Kisalu

#### Titre du projet :

**Mots Clés :** Sicydiinae, Amphidromie, Nouvelles technologies de séquençage, Mitogénome, Otolithes.

#### Résumé du projet

Les rivières insulaires tropicales sont peuplées par des téléostéens amphidromes dont le cycle de vie implique deux migrations entre l'eau douce et l'eau de mer. Les adultes se reproduisent et pondent en rivière et les larves sont transportées vers la mer. Après un temps variable passé en milieu marin, les post-larves recrutent à l'embouchure des rivières et remontent le cours d'eau. Les gobies *Sicydiinae* (9 genres, 100 espèces) sont apparus récemment, lors du dernier million d'années (Keith *et al.*, 2011), et les processus de spéciation commencent tout juste à être étudiés. La phase de vie larvaire marine de ces espèces leur permet de disperser dans l'océan et de potentiellement coloniser des écosystèmes favorables qui sont souvent isolés les uns des autres mais connectés par la matrice océanique (Keith, 2003). Mais la variabilité des barrières géographiques à la dispersion implique que les processus par lesquels leur diversité est apparue et se maintient reste difficile à comprendre.

Le genre *Stiphodon* comporterait 33 espèces réparties dans l'océan Pacifique. Malgré le fort taux d'endémisme de ce genre et sa richesse spécifique (genre comptant le plus grand nombre d'espèces chez les *Sicydiinae*), il n'existe à ce jour que deux publications relatant la structure génétique et basée sur un seul gène : pour une espèce endémique de Micronésie, *S. caeruleus* (Chabbarria *et al.*, 2014) et pour *S. percnopterygionus* (Lord *et al.*, 2015), distribué dans le nord-ouest du Pacifique. La durée de la phase larvaire n'a été estimée que pour cette dernière espèce (Yamasaki *et al.*, 2007). L'objectif de ce projet déposé en 2015 était d'étudier les traits de vie et l'évolution de *Stiphodon rutilaureus*, une espèce largement répartie dans l'ouest et le sud du Pacifique.

#### Résultats obtenus en 2015

##### 1. Analyse microstructurale des otolithes

(Sophie Berland, Clara Lord, Mélyne Hautecœur, Noémie Valenza-Troubat – étudiante L3)

Un total de 40 spécimens provenant du Vanuatu, des Iles Salomons, de Papouasie et de Nouvelle-Calédonie ont été traités. Les spécimens ont été préparés et analysés à la plateforme

d'otolithométrie. Les otolithes ont été extraits, inclus, poncés et photographiés au microscope. La lecture des stries journalières par 3 lecteurs indépendants indique une durée de vie larvaire moyenne (PLD-pelagic larval duration) de  $62 \pm 5$  jours quelque soit la localité. Ce résultat a été comparé à ceux trouvés pour d'autres représentants des Sicydiinae. Pour *Sicyopus zosterophorum* la PLD est de  $54.6 \pm 5.6$  jours, pour *Smilosicyopus chloe* elle est de  $53.6 \pm 5,7$  jours et elle est de  $55.4 \pm 7.5$  jours pour *Akihito vanuatu* (Taillebois *et al.*, 2012). Ces 3 espèces vivent en sympatrie avec *Stiphodon rutilaureus* sur leur aire de distribution. Comparée à des espèces du genre *Sicyopterus*, cette PLD est significativement plus courte. Elle est en effet de  $131 \pm 3.4$  jours pour *S. lagocephalus* (une espèce largement répartie de l'océan Indien au Pacifique), de  $79.2 \pm 4.6$  jours pour *S. aiensis* (endémique du Vanuatu) et de  $76.5 \pm 3.9$  jours pour *S. sarasini* (endémique de Nouvelle-Calédonie). Enfin, lorsqu'on compare à la seule autre espèce de *Stiphodon* pour laquelle la PLD a été estimée, *S. percnopterygionus* ( $99 \pm 16$  jours) on se rend compte qu'elle est deux fois moins importante pour *S. rutilaureus*. Ces différences entre les traits de vie larvaires pourraient apporter des éléments quant aux différentes aires de répartitions de ces espèces. La rédaction d'une publication est en cours pour valoriser ces résultats.

## 2. Mitogénomes

(Clara Lord, Philippe Keith, Eric Feunteun, Homère Monteiro Kisalu – étudiant L3)

Les données génétiques ont été obtenues grâce aux nouvelles technologies de séquençage, notamment le PGM Ion Torrent. Les séquences ont été obtenues pour 23 spécimens et sont en cours de nettoyage ; les mitogénomes ont été obtenus et annotés pour 5 de ces spécimens. Ce sont les premiers mitogénomes obtenus pour *S. rutilaureus*. Une fois assemblé, le mitogénome fait 16505 paires de bases. Il contient 13 gènes codants, les rRNA 12S et 16S, 22 tRNA et une région de contrôle non codante (D-loop). L'utilisation du génome mitochondrial complet permettra de faire de analyses plus fines de la génétique des populations de *Stiphodon rutilaureus* par rapport à l'utilisation d'un seul gène mitochondrial, en intégrant des gènes plus variables que ceux couramment utilisés (comme le COI).

## **Synthèse et perspectives**

Grâce au budget qui nous a été alloué en 2015, nous avons pu mener à bien notre projet sur l'estimation de la durée de vie larvaire pour cette espèce par analyse microstructurale des otolithes (stage de licence 3 – N. Valenza-Troubat). Nous aussi avons pu préparer les échantillons, calibrer les méthodes et sélectionner les amorces utilisées en génétique et nous avons obtenu les données moléculaires brutes (stage de licence 3 – H. Monteiro Kisalu). L'année 2016 sera consacrée à la phase analytique de ces données brutes et aux manipulations complémentaires nécessaires, notamment en génétique. Ces analyses seront menées de front par tous les acteurs de ce projet.

Dans un premier temps les données d'otolithométrie et de génétique seront combinées pour avoir une vue globale de la phylogéographie de *Stiphodon rutilaureus* et de son évolution. Dans un second temps, ces résultats seront comparés aux résultats connus sur d'autres espèces de ce genre mais aussi chez les Sicydiinae d'une manière générale. Enfin, les résultats obtenus sur le modèle *Stiphodon* seront analysés et discutés conjointement avec l'équipe 5 (E. Feunteun) en comparant avec d'autres modèles diadromes (catadrome – Anguillidae – vs. amphidrome – *Stiphodon* –) afin d'apporter des éléments sur les facteurs qui régissent la distribution des espèces dans les îles tropicales Indo-Pacifiques. La variation des traits de vie et la connaissance des flux de gènes entre populations d'espèces diadromes sont des éléments importants en vue de la gestion de ces organismes, surtout dans le contexte du changement global. Néanmoins des analyses complémentaires sont nécessaires (voir ci-après).

## **Demande de renouvellement de financement pour l'année 2016**

Nous demandons un renouvellement du financement car, même si nous entrons dans la phase d'analyse des résultats, nous souhaitons effectuer des manipulations supplémentaires en génétique. Nous aurons besoin de compléter nos données moléculaires en traitant des spécimens supplémentaires (25 spécimens pour lesquels le séquençage a échoué et des spécimens supplémentaires provenant de nos

deux dernières missions de terrain au Vanuatu et aux Iles Salomons effectuées 2015). Nous aurons également besoin d'obtenir des marqueurs moléculaires nucléaires pour affiner les analyses.

### **Planning du projet**

Janvier-Septembre 2016 : nettoyage et assemblage du mitogénome pour la totalité des individus déjà traités. Obtention des mitogénomes des spécimens supplémentaires. Obtention des marqueurs nucléaires. Analyse de la structure des populations. Intervenants : C. Lord, E. Feunteun, P. Keith.

Octobre-Décembre 2016 : Finalisation du projet et mise en commun des résultats, discussions entre tous les intervenants du projet et rédaction.

### **Budget pour l'année 2016**

Analyses moléculaires : 1500 € (extraction d'ADN, PCR longues, séquençage au PGM ion torrent).

Chabarría, R., Furiness, S., Patterson, L., Hall, J., Chen, Y., Lynch, B., pezold, F., 2014. Genetic structure and demographic history of endemic micronesian blue riffle goby, *Stiphodon caeruleus* (Gobiidae) inferred from mitochondrial DNA sequence analysis. *Copeia* 2014 (1): 23-37.

Keith, P. (2003). Biology and ecology of amphidromous Gobiidae of the Indo-Pacific and the Caribbean regions. *Journal of fish biology*, 63(4), 831-847.

Keith, P., Lord, C., Lorion, J., Watanabe, S., Tsukaoto, K., Couloux, A., Dettai, A. (2011). Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Marine Biology*. 158(2): 311-326

Lord C., Maeda K., Keith P., Watanabe S. 2015. Population structure of the Asian amphidromous Sicydiinae goby, *Stiphodon percnopetrygionus*, inferred from mitochondrial Coi sequences, with comments on larval dispersal in the northwest Pacific Ocean. *Life and Environment* 35(2): 63-71.

Lord C., Lorion J., Dettai A., Watanabe S., Tsukamoto K., Cruaud C., Keith P., 2012. From endemism to widespread distribution: phylogeography of three amphidromous *Sicyopterus* species (Teleostei: Gobioidae: Sicydiinae). *Marine Ecology Progress Series*. 455: 269-285

Taillebois, L., Castelin, M., Ovenden, J., Bonillo, C., Keith. P. 2013. Contrasting genetic structure among populations of two amphidromous fish species (Sicydiinae) in the Central West Pacific. *Plos One* 8(10): e75465

Yamakasi, N., Maeda K., Tachihara, K. 20017. Pealgic larval duration and morphology at recruitment of *Stiphodon percnopetrygionus* (Gobiidae: Sicydiinae). *Raffles Bulletin of Zoology supplément* 14 : 209-2014.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes / inter-sites

### Identification du cycle de reproduction de l'huître de palétuvier, *Crassostrea rhizophorae* et transfert de tests écotoxicologiques de *C. gigas* à *C. rhizophorae*

#### Axe transversal de BOREA

- Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)

#### Projet Inter-équipes et Inter-sites

**Co-responsable 1 :** Soazig LEMOINE ; Equipe 1 Pointe-à-Pitre Guadeloupe (UA).

**Co-responsable 2 :** Katherine COSTIL ; Equipe 1 Université de Caen Normandie (UCN).

**Partenaires :** Anne Sophie MARTINEZ Université de Caen (Equipe 2 ; UCN), Béatrice ADELIN (équipes 1 et 2 ; UCN).

**Mots Clés :** Huîtres, reproduction, histologie, écotoxicologie, embryotoxicité.

#### Projet :

Le projet sur l'huître de palétuvier, *Crassostrea rhizophorae*, avait pour objectifs 1) de déterminer son cycle reproducteur aux Antilles et 2) de contribuer à la mise au point de tests écotoxicologiques déjà opérationnels chez *C. gigas*. Présente à l'état sauvage, *C. rhizophorae* est utile en tant qu'espèce sentinelle afin d'évaluer le niveau de pollution du littoral guadeloupéen et, de manière plus globale, l'état de santé des mangroves antillaises. En Guadeloupe, cette biosurveillance est cruciale du fait de la pollution d'une partie du littoral par la chlordécone.

En 2015, une collaboration inter-sites (sites de Pointe-à-Pitre / Caen) et inter-équipes (équipes 1 et 2) a permis la réalisation d'une série d'échantillonnages de *C. rhizophorae* principalement sur deux sites : La Manche à Eau (MAE) servant de « site témoin » et La Baie du Lamentin (BDL), site contaminé par la chlordécone. Si K. Costil (équipe 1 ; UCN) et A. S. Martinez (équipe 2 ; UCN) ont ponctuellement participé à ces échantillonnages (en juin 2014 et 2015), c'est essentiellement S. Lemoine (équipe 1 ; UA) qui est en charge du travail de terrain et de l'acquisition des paramètres biométriques. Par la suite, les coupes histologiques, réalisées et analysées à Caen ont permis, pour la première fois, d'apporter des éléments de réponse sur le cycle gamétogénétique de cette espèce en Guadeloupe. Avec un pourcentage moyen de 64,1 à 57,2%, les femelles dominent les populations alors que les hermaphrodites sont représentés à hauteur de 1,18 - 1,52% (respectivement, à BDL et MAE). Contrairement à *C. gigas* en métropole, le cycle reproducteur de *C. rhizophorae* en Guadeloupe est continu avec trois individus seulement (sur 434) en repos sexuel ou stade de gamétogénèse (stade II de *C. gigas*). Dans tous les autres cas (soit 99 et 96% des individus à MAE et BDL, respectivement), les huîtres sont aux stades de maturité sexuelle et ponte/résorption. Néanmoins, ces stades (stades III de *C. gigas*) sont particuliers dans la mesure où de nombreuses cellules sexuelles en cours de gamétogénèse peuvent être observées de façon concomitante aux spermatozoïdes ou ovocytes matures du cycle précédent. Ainsi, les différents stades observés successivement chez *C. gigas* en métropole se chevauchent chez *C. rhizophorae*. Cela implique que des gamètes matures sont présents dans les gonades des huîtres *C. rhizophorae* tous les mois d'échantillonnage mais qu'ils sont, quasiment tout le temps, accompagnés de cellules sexuelles non matures du cycle suivant ; ceci a des conséquences pour la réalisation de tests d'embryotoxicité (qui nécessitent de disposer de gamètes matures en grande quantité).

L'histologie permet également de déterminer la qualité des tissus et d'éventuelles infestations parasitaires. Des études précédentes de S. Lemoine ont montré la présence du parasite protozoaire du



genre *Perkinsus* dans l'huître de palétuvier ainsi que dans d'autres mollusques de la mangrove. En première approche, nous avons calculé une faible prévalence (1,76%) de parasites métazoaires restant à déterminer dans la population de *C. rhizophorae* à BDL. De plus, sur ce site et à certaines dates, l'observation de nombreuses cellules circulantes de type « macrophage » nous incitent à mieux quantifier l'ampleur du phénomène et à entreprendre des investigations sur la mise au point, sur les hémocytes de *C. rhizophorae*, du test de rétention du rouge neutre qui peut également constituer un outil utile en surveillance environnementale.

Le travail histologique initié en juin 2014 et effectué en 2015 devrait être poursuivi en 2016. En effet, il n'a pas été possible d'effectuer des échantillonnages à certaines dates de l'année et la base de données devrait être complétée en 2016. Par ailleurs, il importe de mieux exploiter les coupes histologiques par une approche histopathologique plus poussée. Enfin, il serait intéressant d'évaluer quantitativement la part prise par les cellules sexuelles du cycle n (gamètes matures) de celle prise par les cellules sexuelles non matures du cycle n+1 afin de décrire plus finement le cycle reproducteur des huîtres issues des deux sites qui, sur la base du sex-ratio et des stades de gamétogenèse, ne se distinguent actuellement pas. Une évaluation de l'effort de reproduction pourrait également être entreprise (histologie et analyse d'images) ainsi qu'une description plus fine des cellules sexuelles (histologie et ponctuellement distinction des cellules somatiques *versus* germinales à l'aide de marquages en immunohistochimie/fluorescence).

Par ailleurs, notre collaboration inter-sites avait pour objectif de mettre au point, pour *C. rhizophorae*, le test d'embryotoxicité classiquement utilisé chez *C. gigas*. Des premiers essais de stimulation d'émission des gamètes ont été réalisés lors de la venue K. Costil en juin 2014 et ils ont été poursuivis en 2015 par S. Lemoine. Ces essais ne se sont révélés que partiellement satisfaisants dans la mesure où des fécondations et des stades de développement ont été observés mais qu'aucune larve véligère D n'a été obtenue. Ce relatif échec pourrait être dû à la qualité des gamètes au moment des essais et/ou aux modalités de leur obtention. Il importe donc de poursuivre le travail en essayant d'autres techniques (*e.g.* stimulation thermique avec d'autres températures ou stimulations chimiques, voire osmotiques).

### **Demande de renouvellement pour 2016 :**

#### **Planning du projet :**

##### **En Guadeloupe**

- Réalisation d'échantillonnages complémentaires pour combler les données actuellement manquantes (+ acquisition des paramètres biométriques et fixation des échantillons) ;
- Continuation de la mise en place du test d'embryotoxicité chez *C. rhizophorae* ;
- Réalisation d'essais du test de rétention du rouge neutre.

##### **A Caen**

- Réalisation et lecture des coupes histologiques pour les nouveaux échantillons d'huîtres ;
- Continuation de l'exploitation des coupes déjà réalisées tant du point de vue de la reproduction que de l'approche histopathologique (*cf* *texte plus haut*).

#### **Budget : 1500 euros**

- Essence bateau 200 euros (UA)
- Produits pour histologie 400 euros (UA)
- Mission Caen/PAP 800 (Caen)
- Envoi des échantillons (chronopost ou fedex) 100 euros

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites et demande de délai pour les analyses

### Détermination du régime trophique de mollusques marins : approche par PCR sur les contenus stomacaux

#### Axe transversal de BOREA

- *Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)*

#### Projet Inter-équipe

**Co-responsable 1 :** Karine Grangéré Equipe 5, Caen, [karine.grangere@unicaen.fr](mailto:karine.grangere@unicaen.fr)

**Co-responsable 2 :** Kristell Kellner Equipe 2, Caen, [kristell.kellner@unicaen.fr](mailto:kristell.kellner@unicaen.fr)

**Co-responsable 3 :** Jean-Paul Robin Equipe 5, Caen, [jean-paul.robin@unicaen.fr](mailto:jean-paul.robin@unicaen.fr)

**Mots Clés :** régime trophique, PCR, mollusques, *Buccinum undatum*, *Loligo vulgaris*, *Loligo forbesi*

#### Projet :

La connaissance de l'écologie trophique d'une espèce (position dans le réseau trophique et interactions avec les autres espèces) est particulièrement importante afin de pouvoir évaluer son évolution potentielle en relation avec les changements climatiques.

Traditionnellement, le régime trophique est déterminé par identification taxonomique des organismes présents dans le contenu stomacal, ce qui donne une image des derniers repas. Une autre approche consiste à réaliser une analyse de la signature isotopique ce qui donne une image plus intégrative permettant de remonter à quelques semaines voir à quelques mois selon l'organe étudié. En ce qui concerne cette dernière approche une bonne connaissance des habitudes alimentaires (proies potentielles) du prédateur est essentielle pour pouvoir déterminer son régime trophique. Cependant, l'inconvénient de réaliser une analyse des contenus stomacaux en se basant uniquement sur une approche taxonomique est qu'il n'est pas toujours facile d'identifier avec certitude les restes retrouvés dans l'estomac. Dans ce projet, nous proposons donc de mettre en place une approche basée sur l'identification des restes stomacaux par PCR et de la comparer à l'identification taxonomique directe des proies.

En ce qui concerne le buccin, la détermination de son régime trophique sur la base de l'analyse des contenus stomacaux par identification visuelle de fragments de proies a été réalisée sur des spécimens de grande taille (environ 80 mm) au Canada (Himmelman et Hamel, 1996). Ces auteurs ont montré que ces buccins se nourrissent essentiellement de mollusques et annélides polychètes. Sur nos côtes, la taille des spécimens (autour de 60 mm) peut rendre difficile cette détermination visuelle. Le premier objectif était de vérifier la possibilité de prélever et déterminer le contenu stomacal chez le buccin soit par identification taxonomique, soit par identification moléculaire basée sur l'analyse en PCR des contenus stomacaux : des amorces

universelles reconnaissant le gène de cytochrome c oxydase I (COI) sont été utilisées avec succès chez différents invertébrés marins (Blankenship and Yayanos, 2005). Elles ont permis d'identifier des proies très variées incluant poissons, bivalves et polychètes.

En ce qui concerne les calmars, le régime alimentaire de *Loligo vulgaris* et de *Loligo forbesii* a été étudié au moyen de l'analyse de contenus stomacaux (Rocha et al, 1994 ; Wangvoralak et al, 2011). Ces travaux mettent en évidence la part prépondérante jouée par les poissons téléostéens comme proies des calmars (présents dans plus de 80% voire 90% des contenus). La détermination des poissons proies repose surtout sur la morphologie des otolithes (Harkonen, 1986) mais les calmars peuvent manipuler leurs proies et consommer la chair des poissons sans nécessairement ingérer la tête. Rocha et al. 1994 montrent ainsi dans les pourcentages numériques des proies plus de 30% de "poissons non identifiés". Depuis la raréfaction de l'espèce *Loligo forbesii* au Sud de son aire de répartition la Manche est un des principaux secteurs où les deux espèces sont capturées en sympatrie et leurs différences étudiées.

L'objectif de ce projet est donc de mettre au point l'approche méthodologique par PCR sur les contenus stomacaux et de valider cette approche en la confrontant aux données bibliographiques concernant le régime de ces espèces et à la détermination directe des fragments de proies dans l'estomac des mêmes échantillons.

### **Restitution du projet**

L'approche méthodologique a été en premier lieu développée chez le Buccin.

Des buccins ont été pêchés au casier après avoir été appâtés avec des restes de 3 espèces connues (*Carcinus Maenas*, *Cancer pagurus* et *Scyliorhinus caniculata*). Cent individus ont été échantillonnés pour cette étude (50 dédiés à l'identification directe du contenu stomacal, 50 dédiés à l'identification moléculaire). L'estomac a été repéré (figure 1) et les contenus ponctionnés.

**Identification directe du contenu stomacal :** Cette approche a été mise en place dans le cadre d'un stage de master 1 au cours duquel 27 contenus stomacaux ont été examinés en microscopie. Les résultats ont permis de mettre en évidence la présence de matière dans certains estomacs, cependant, il n'a pas été possible d'identifier avec certitude les proies. Les 23 buccins restants n'ont pas encore été analysés.

**Identification par PCR du contenu stomacal :** L'ADN a été extrait à partir du contenu stomacal de 50 individus. 28% (14) présentent une quantité d'ADN suffisante pour une exploitation. Les séquences partielles de COI de ces 3 espèces appât et du buccin sont connues (Genebank KJ709620.1 pour *Scyliorhinus caniculata* ; Genebank JQ306001.1 pour *Cancer pagurus* ; Genebank JQ306003.1 pour *Carcinus maenas* ; Genebank KF644029.1 pour *Buccinum undatum*). Le choix des amorces d'amplification est déterminant : elles doivent permettre d'amplifier une région variable du gène COI de toutes les espèces potentiellement incluses dans le régime trophique. Pour cette étude, les amorces « universelles » classiquement utilisées par de nombreux auteurs et décrite pour la première fois par Folmer *et al.* (1994) ont été choisies. Pour pallier au problème de la contamination du contenu stomacal par des cellules du buccin, une amorce bloquante, spécifique du CIR de buccin a également été utilisée pour bloquer l'amplification à partir de l'ADN hôte (Table 1 et Figure 2).

Différents protocoles d'amplification décrits dans la littérature ont été comparés sur des pools normalisés de plusieurs individus ou sur des individus isolés, avec et sans amorce bloquante. Un protocole a permis d'obtenir une bande de la taille attendue (700pb) avec et sans amorce bloquante. Le sous clonage et le séquençage de ce fragment sont en cours.

Concernant les calmars Loliginidés de Manche, un premier échantillon récolté fin décembre 2014 a été analysé (échantillon de 82 spécimens dont 61 estomacs non vides). Les signatures isotopiques des deux espèces ont été comparées et la détermination des contenus stomacaux à partir de la morphologie des "parties dures" –otolithes, vertèbres, becs, carapaces- (stage de Master 1 de Zoé Porcher, inclus dans une communication orale à l'ICES-ASC – Malhomme et al. 2015). La fréquence d'apparition des proies souligne la difficulté à déterminer certains taxons puisque les "Téléostéens indéterminés" apparaissent respectivement dans 92% et 54% des estomacs de *Loligo vulgaris* et *Loligo forbesii*.

La fraction "molle" des contenus stomacaux a été conservée au congélateur et reste disponible pour une analyse moléculaire.

D'autres échantillons de ces calmars ont été récoltés en été et en automne 2015 afin de prendre en compte les variations saisonnières et de tenir compte du décalage dans le cycle des deux espèces

### Planning du projet :

Un délai est demandé pour achever ce travail au cours de l'année 2016.

### Illustration



Figure 1- Image d'un buccin décoquillé situant son estomac

Table 1- Séquences des amorces COI et de l'amorce bloquante utilisée pour l'amplification par PCR

Nom des séquences	Séquence (5' → 3')
LCO 1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
HCO 2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
BlockingBuund RevPrimer	GACCAAAAAATCAGAATAAATGTTGATAT

: Région de chevauchement avec l'amorce HCO  
 : Région de la séquence de *B. undatum*

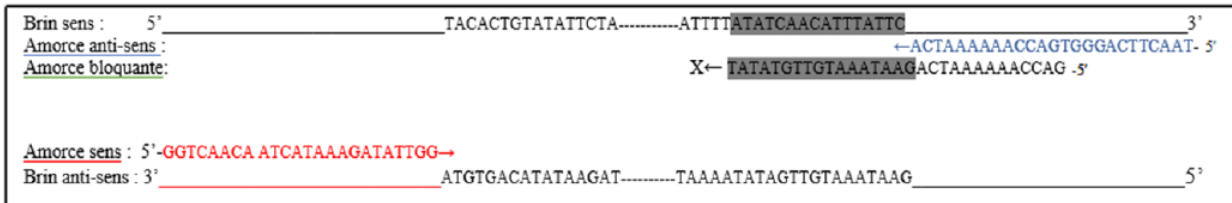


Figure 2- .Une région de quelques paires de base de la séquence de *Buccinum undatum* à amplifier (**Annexe 2**) montrant la localisation des différentes amorces utilisées dans cette étude.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites

### Étude de la photophysiology d'Anthozoaires récifaux (coraux et gorgones) dans leur environnement – Capacités d'adaptation au changement climatique global

#### Axe transversal de BOREA

- *Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)*

#### Projet inter-équipes et inter-sites

**Co-responsable 1 :** Bouchon, Claude, Biominéralisation (équipe 1), Guadeloupe,  
Claude.Bouchon@univ-ag.fr

**Co-responsable 2 :** Claquin, Pascal, Diversité et interactions dans les écosystèmes côtiers  
(équipe 5), Caen, Pascal.claquin@unicaen.fr

**Autres participants :** Équipe 1 : Lopez Jean-Pascal, Trouillefou Malika, Bouchon-Navaro  
Yolande, Aurélien Japaud, Equipe 5 : Eric Feunteun

**Mots Clés :** Coraux — Gorgones — Zooxanthelles — Photosynthèse — Changement global

#### Bilan et suite du Projet :

De nombreux Anthozoaires récifaux sont des animaux vivants en symbiose avec des algues Dinoflagellés : les zooxanthelles. Leur rôle principal est d'apporter à leur hôte une contribution alimentaire sous la forme de métabolites carbonés photosynthétisés. Ces symbiontes, constitués de clades ayant des caractères génétiques différents, sont capables de conférer à leur hôte des capacités particulières d'adaptation à leur environnement. Par exemple, certains d'entre eux vont accélérer la croissance de l'hôte, d'autres vont les rendre plus tolérants vis-à-vis des changements de température...

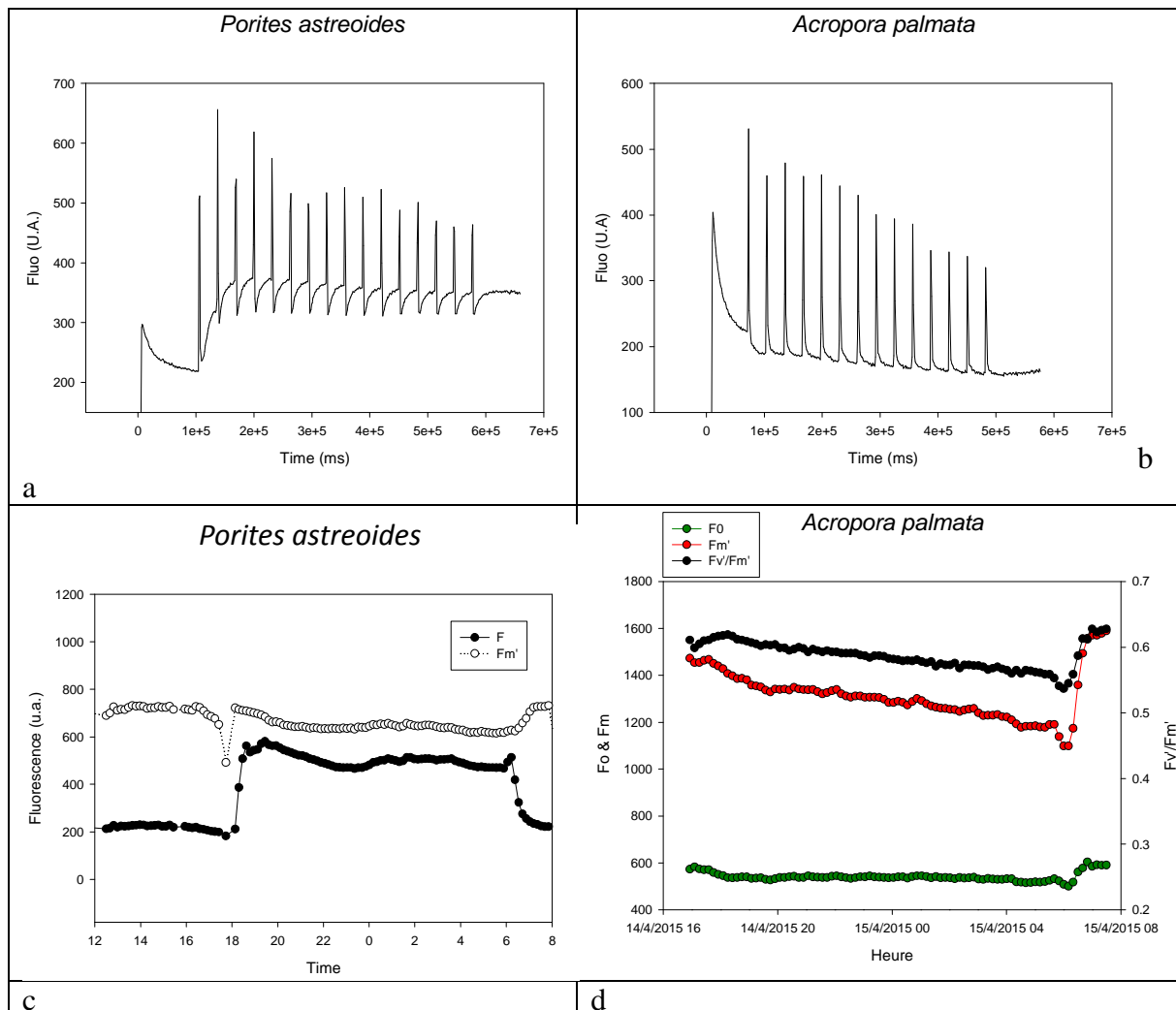
En 2014, un programme d'étude de la photosynthèse chez les coraux a été initié entre l'équipe 1 (C. Bouchon, P. Lopez, M. Trouillefou) et l'équipe 5 (P. Claquin). Une première mission de terrain, réalisée en Guadeloupe, a permis de valider des méthodes de mesure *in situ* et *in vitro* des paramètres photosynthétiques des coraux, à l'aide d'un fluorimètre submersible (« Diving-PAM »), qui ont permis de mettre en évidence des mécanismes originaux des mécanismes de chlororespiration chez le corail *Porites astreoides*. Nous avons complété ce travail lors de deux campagnes de mesures en avril et juillet 2015 en réalisant des mesures de photosynthèse complémentaires et en augmentant le nombre d'espèces testées. Nous avons confirmé via deux protocoles complémentaires (Mc Cabe Reynolds et al 2008, Notre protocole : Light/Dark) que des régulations particulières étaient observées au niveau de la chaîne photosynthétique des zooxanthelles chez le corail *Porites astreoides* avec une activité de chlororespiration très forte à l'obscurité. Les deux autres espèces du genre *Porites* testées (*P.divaricata* et *P.furcata*) ont montré une réponse similaire à *P. astreoides* en appliquant le protocole de Mc Cabe Reynolds 2008 mais en revanche notre protocole n'a pas montré d'activité de chlororespiration marquée. Les autres espèces testées *Acropora palmata*, *Motastrea cavernosa*, *Diploria strigosa*, n'ont montré aucun signe de chlororespiration avec les deux protocoles. En complément nous avons également réalisé des mesures de photosynthèse et respiration en utilisant des cloches benthiques *in situ*.

Nous avons obtenu des résultats reproductibles pour les six espèces de coraux testés. Nous souhaitons poursuivre cette étude afin de mettre en parallèle les données que nous avons obtenues avec les données de diversité des clades de Zooxanthelles associés aux coraux acquises dans le cadre d'un autre programme. De plus nous souhaitons réaliser nos mesures sur des coraux à différentes profondeurs pour estimer l'impact du gradient de lumière sur cette régulation et sur la diversité des zooxanthelles associées. Nous pourrons ensuite valoriser ce travail.

### **Demande de renouvellement pour 2016 :**

**Planning du projet sur un an :** étude de terrain, mission en Guadeloupe de Pascal Claquin et Jean Pascal Lopez, analyse des données et valorisation des résultats

**Budget :** 2 missions Hexagone – Guadeloupe : 2 x 750 € = 1500€



Mesures de fluorescence à l'aide d'un Diving PAM Walz – a, b protocole de Mc Cabe Reynolds et al. 2008 – c, d . protocole light/:dark.





Mesure du métabolisme de *Porites astreoides in situ* sous cloche benthique – Couplage de mesures d'O<sub>2</sub> et de PAM.



## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites

### **Place du zooplancton dans les réseaux trophiques des sites éoliens. Exploration en vue d'une étude comparée Normandie/Bretagne des effets de la construction des éoliennes et des changements climatiques.**

#### **Axe transversal de BOREA**

- *Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)*

#### **Projet Inter-sites**

**Co-responsable 1 : Niquil, Nathalie**, Equipe 5, Caen, nathalie.niquil@unicaen.fr

**Co-responsable 2 : Robinet, Tony**, Equipe 5, Concarneau, robinet@mnhn.fr

**Autres participants :** Aurore Raoux, Doctorante, Equipe 5 Caen, Grangeré Karine, Equipe 5, Caen, François Leloc'h, LEMAR, Brest

**Mots Clés :** Isotopes, Modèles de réseaux trophiques, Copépodes, Larves diverses

#### **Projet :** *En italique : bilan de ce qu'on a réussi à faire*

Projet prévu

Dans le cadre de la thèse d'Aurore Raoux, nous avons prévu de modéliser le réseau trophique de la zone d'implantation du futur parc éolien au large de Courseulles-sur-Mer construit, puis de réaliser des analyses de sensibilité en refaisant tourner le même modèle dans des situations simulées correspondant à l'effet de la construction et de l'exploitation des éoliennes (changement de sédiment, effet récif, effet réserve). Dans un deuxième temps (en 2016), nous simulerons aussi l'effet des changements climatiques sur le changement d'aire de répartition de 2 espèces commerciales, l'amande de mer et la coquille St Jacques par les approches qualitatives (collaboration Jeff Dambacher, CSIRO Australie). Le début du travail d'Aurore a consisté à rassembler toutes les données disponibles sur la zone et il apparaît un manque criant de données sur le zooplancton. Pour cela, nous aurons besoin des connaissances aussi bien de Karine Grangeré sur Caen, que de Tony Robinet et Héloïse You sur Concarneau. Ce zoom sur le rôle du zooplancton se fera sur l'holoplancton et le méroplancton, en isolant les espèces qui dominent la biomasse dans les groupes trophiques brouteurs, carnivores, et détritivores.

*Ce qu'on a réussi à faire :*

*Des prélèvements de zooplancton (3 coups de filets WP2) ont été réalisés le 7 mars 2015 et le 3 octobre 2015 au niveau du site d'implantation du futur parc éolien au large de Courseulles-sur-Mer. Ces échantillons ont pu être prélevés de manière opportuniste lors de campagnes en mer de l'UMR M2C (Port 2000) en collaboration avec BOREA. Les échantillons prélevés ont été congelés et transférés à Tony Robinet qui est en cours de réalisation du travail d'identification afin d'isoler les espèces qui dominent la biomasse dans les groupes trophiques brouteurs, carnivores, et détritivores. Des analyses isotopiques seront ensuite réalisées sur ces groupes.*

*Des prélèvements de suprabenthos ont également été réalisés le 7 mars 2015 à l'aide d'un traineau suprabenthique. Le suprabenthos se définit comme les organismes vivant dans la couche d'eau immédiatement adjacente au fond qui effectuent des migrations verticales journalières et/ou saisonnières à des distances variables du fond (Brunel et al., 1978). Il joue un rôle dans les transferts actifs de matière vivante entre le benthos et le pelagos (Mees and Jones, 1997; Vallet and Dauvin, 2001).*

*Enfin des prélèvements d'organismes benthiques ont également été réalisés le 18 mars 2015 lors de la campagne en mer H2O et le 3 octobre 2015 lors de la campagne en mer (Port 2000) à l'aide d'une drague Rallier du Baty. Les tissus de ces organismes ont été prélevés, puis lyophilisés au LEMAR à Brest durant la semaine du 23-27 mars 2015 avec l'aide de François Le Loc'h. Ils vont par la suite être broyés et encapsulés.*

Projet suite :

Une comparaison avec un échantillonnage à proximité de Concarneau est aussi prévue mais la zone reste à définir afin de profiter des échantillonnages déjà prévus, soit en baie de Concarneau, soit à proximité du site de Groix. En effet, nous espérons dans l'année, la sortie d'un appel d'offre de France Energie Marine sur lequel se baserait une comparaison de la construction d'éoliennes flottantes, prévues à Groix et des éoliennes posées de Courseulles. Dans cette étude, le cumul d'impact avec les effets des changements climatiques sera central.

*Ce qu'on a réussi à faire :*

*Pas grand-chose à ce stade sur le côté Breton car les missions sur Groix auxquelles nous espérons participer ont été annulées (notre projet sur les éoliennes ayant été recentré sur la Normandie suite au retrait de notre projet de l'entreprise DCSN qui devrait collaborer avec nous sur l'île de Groix) et les moyens à la mer de Concarneau ont eu des problèmes techniques.*

*Nous continuerons donc ce projet en collaboration avec Tony mais uniquement sur la partie Normande de l'échantillonnage initialement prévu. Nous prendrons le modèle de réseau trophique de Courseulles-sur-mer mis en place par Aurore Raoux dans sa thèse pour en extraire une analyse du rôle trophique joué par le zooplancton en le comparant à celui issu des résultats de l'analyse isotopique qui devrait être disponible d'ici quelques mois.*

**Planning du projet :**

*A adapter au rythme de tri de Tony et à la disponibilité du plateau isotope du LEMAR.*

**Budget :**

*Pas de nouveau budget demandé, nous pourrons continuer ce travail dans le cadre du projet TROPHIK qui financera les missions et les isotopes restant.*



Photos des prélèvements de zooplancton au filet WP2 prises par Aurore Raoux.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites

### **Etude de la communication chimique entre le crabe (*C. maenas*) et la sacculine (*S. carcini*) par une approche peptidomique / protéomique comparée de l'hémolymphe de crabes sacculinés versus non sacculinés**

#### **Axe transversal de BOREA**

- *Communication chimique (coord : J. Henry / C. Zatylny-Gaudin)*

#### **Projet inter-équipes et inter-sites**

**Co-responsable 1** : RABET, Nicolas, Equipe 4, Site MNHN, Paris, [rabet@mnhn.fr](mailto:rabet@mnhn.fr)

**Co-responsable 2** : HENRY, Joël, Equipe 2, Site Université de Caen, [joel.henry@unicaen.fr](mailto:joel.henry@unicaen.fr)

Autres participants éventuels :

AUDEBERT, Fabienne, Equipe 4, Site MNHN, Paris, [fabienne.audebert@upmc.fr](mailto:fabienne.audebert@upmc.fr)

BERNAY Benoît, Plateforme PROTEOGEN, Caen, [benoit.bernay@unicaen.fr](mailto:benoit.bernay@unicaen.fr)

**Mots Clés** : *crabe, sacculine, interaction hôte/parasite, castration chimique, peptidomique, protéomique.*

**Projet** : La sacculine (*Sacculina carcini*) est un parasite du crabe vert (*Carcinus maenas*) qui est connu pour communiquer avec son hôte afin de modifier sa physiologie au profit du parasite installé. 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 via des molécules chimiques circulantes. Il a été aussi montré que la molécule circulante détruit en grande partie la glande de mue et donc bloque sa fonction hormonale. L'ensemble de ces modifications physiologiques sont des phénomènes biologiques remarquables encore très mal connus.

Nous nous proposons d'étudier les mécanismes de communications hôte/parasite en ciblant en particulier l'hémolymphe du crabe, vecteur probable de cette communication chimique. Notre stratégie repose sur la comparaison des peptidomes/protéomes circulants du crabe sacculiné versus non sacculiné. 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.

L'équipe de Paris a collecté les animaux et l'hémolymphe avec l'équipe de Caen (fig.1) et elle participera à l'analyse *in silico*.

Figure 1 : prélèvement de l'hémolymphe



L'équipe de Caen a déjà analysé les échantillons des crabes sains mâles et femelles, non parasités, avec une approche peptidomique (nanoLC, MS/MS). Une analyse *in silico* sera aussi conduite par l'équipe de Caen à partir des bases de données transcriptomiques.

## Résultats/Discussion/ Renouveau

Les échantillons d'hémolymphe ont posé de nombreux problèmes au niveau chromatographique et ont nécessité d'importants ajustements techniques pour éviter le colmatage des nanocolonnes. Toutefois, les analyses réalisées en nLC-MALDI-TOF/TOF ont finalement permis d'obtenir un grand nombre de spectres MS/MS (tableau 1).

Tableau 1 : analyses MS/MS d'hémolymphe de *Carcinus maenas* mâles et femelles.

animaux	femelles (n=5)		mâles (n=5)	
	hémolymphe	hémolymphe	hémolymphe	hémolymphe
tissu	hémolymphe	hémolymphe	hémolymphe	hémolymphe
traitements	réduction/alkylation	réduction/alkylation digestion trypsique	réduction/alkylation	réduction/alkylation digestion trypsique
spectres MS/MS	6840	6680	1937	602

Le nombre de MS/MS est beaucoup plus important au niveau des extraits d'hémolymphe femelle ce qui traduit une concentration peptidique et protéique plasmatique plus élevée chez la femelle que chez le mâle.

On observe par ailleurs des spectres MS et MS/MS d'excellente qualité (figure 2), ce qui permettra, lorsqu'un transcriptome sera disponible, d'obtenir un grand nombre d'identifications.

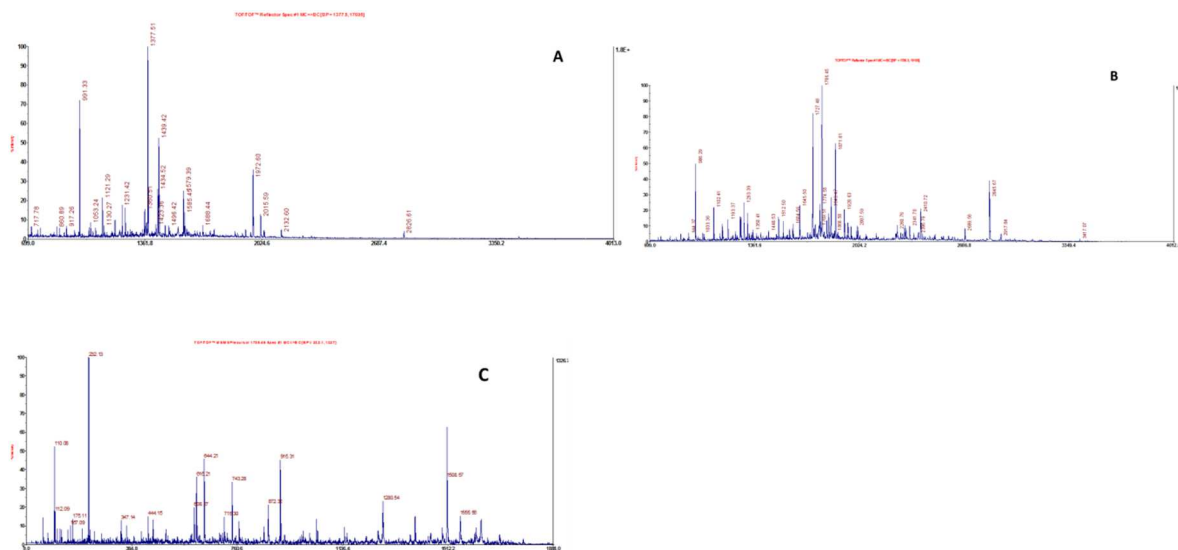


Figure 2 : (A) spectre MS de l'hémolymphe mâle après réduction/alkylation, (B) spectre MS de l'hémolymphe femelle après réduction/alkylation, (C) spectre MS/MS de l'hémolymphe femelle après réduction/alkylation.

La banque virtuelle qui a été générée comme décrit précédemment, n'a pas permis d'obtenir d'identifications pour le moment. La réussite de cette tentative était soumise à un certain nombre de conditions : la parfaite conservation du pattern de cystéines, l'obtention de peptides tryptiques correspondant à ce domaine particulier et bien entendu la présence de VIH/MIH/GIH dans l'hémolymphe des femelles étudiées.

Compte tenu de ces résultats préliminaires qui se sont avérés négatifs, les analyses qui étaient initialement prévues à partir d'hémolymphe de *Carcinus* sacculinés n'ont pas encore été réalisées, dans l'attente de disposer d'un transcriptome de sacculine qui nous permettra de réaliser une première série d'analyses différentielles dont l'objectif est de mettre en évidence dans l'hémolymphe des crabes verts des peptides circulants exprimés par la sacculine. Alors qu'une série de transcriptomes séquencés cet été chez le crabe vert *C. maenas*, soient disponibles au téléchargement, le SNC et l'organe Y ne font pas partie des organes séquencés. Leur séquençage sera donc une priorité après celui de la sacculine.

Ces deux séries d'analyses permettront de vérifier l'existence d'une communication croisée entre l'hôte et le parasite, et si celle-ci est avérée, la nature des peptides détectés constituera un indice important pour comprendre les conséquences physiologiques de ce mécanisme.

Les conditions d'analyses en nLC-MS/MS étant désormais bien établies, il est maintenant indispensable de disposer du transcriptome de la sacculine pour avancer efficacement dans ce projet très original d'étude de la communication chimique hôte/parasite, l'hôte et le parasite appartenant au même phylum.

Dans cette perspective de comprendre la communication entre la sacculine et le crabe vert nous souhaitons continuer notre étude en réalisant maintenant une approche transcriptomique complémentaire et indispensable à l'approche peptidomique. Pour cela nous souhaitons donc construire deux banques de cDNA, une à partir de larves nauplius et cypris et l'autre comprenant des adultes. Pour réduire les coups nous allons nous associer à d'autres projets pour constituer une ligne de séquençage (HiSeq 2500, illumina).

Cette banque permettra aussi d'appliquer la stratégie « gène candidat » en recherchant par blasts sur les transcriptomes assemblés des gènes transcrits pouvant être impliqué directement dans les processus de communication ou dans d'autres processus biologiques majeurs.

### **Demande de renouvellement :**

#### **Planning du projet :**

Extraction des ARNm + Séquençage (Illumina, NGS) : 4-6 semaines

Récupération des fichiers fastaQ + assemblage et annotation : 4-8 semaines

Analyse *in silico* : durée indéterminée

Analyses peptidomiques : 3-4 semaines

#### **Budget : 1500 euros**

Construction des banques d'ADNc : 200 euros x 2 pour les échantillons

Séquençage : 1100 euros (ligne de séquençage partagée)

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes / inter-sites

### Détection et caractérisation des phéromones impliquées dans la reproduction sexuée chez les diatomées du genre *Pseudo-nitzschia*

#### Axe transversal de BOREA

- Communication chimique (coord : J. Henry/ C. Zatylny-Gaudin))

#### Projet Inter-équipes

**Co-responsable 1** : Fauchot, Juliette, Equipe 5, Caen, [juliette.fauchot@unicaen.fr](mailto:juliette.fauchot@unicaen.fr)

**Co-responsable 2** : Zatylny-Gaudin, Céline, Equipe 2, Caen, [celine.gaudin@unicaen.fr](mailto:celine.gaudin@unicaen.fr)

**Mots-Clés** : diatomées, *Pseudo-nitzschia*, reproduction sexuée, phéromones, spectrométrie de masse

#### Projet :

Les objectifs de ce projet étaient de réaliser des expériences de reproduction sexuée chez des diatomées toxiques du genre *Pseudo-nitzschia* afin : 1) de mettre en évidence l'existence de phéromones chez ces diatomées à différentes étapes de leur cycle de vie et 2) de caractériser la structure de ces phéromones.

Les diatomées (Straménopiles, Bacillariophyceae), de par leur mode de division unique, sont caractérisées par une diminution progressive de la taille cellulaire durant la phase de croissance végétative de leur cycle de vie. Chez la plupart des espèces de diatomées, la reproduction sexuée est un passage obligé pour restaurer des cellules viables de grande taille. Les événements de reproduction sexuée au sein des populations naturelles de diatomées jouent un rôle important dans le contrôle de la périodicité de leurs efflorescences (D'Alelio et al. 2010). Certaines études rapportent également une influence de l'apparition des stades sexués sur les taux de sédimentation des efflorescences (Rynearson et al. 2013). Certaines espèces du genre *Pseudo-nitzschia* produisent une neurotoxine, l'acide domoïque, responsable d'intoxications amnésiantes chez les humains. Chez ces espèces, le cycle de vie semble influencer cette production de toxine (Lelong et al. 2012). Une meilleure connaissance de la reproduction sexuée des espèces de *Pseudo-nitzschia* est donc cruciale pour mieux appréhender l'influence du cycle de vie à la fois sur la dynamique de leurs efflorescences et sur leur production de toxine. La plupart des espèces de *Pseudo-nitzschia* étant hétérothalliques, l'induction de la reproduction sexuée nécessite la rencontre et l'appariement de deux cellules végétatives de types sexuels opposés (TS+ et TS-). De récentes études ont montré que, chez d'autres diatomées, des phéromones interviendraient dans l'induction de la phase sexuée, l'appariement des cellules de sexes opposés, la production de gamètes et/ou leur rencontre (Sato et al. 2011, Gillard et al. 2013, Frenkel et al. 2014). Des expériences préliminaires chez différentes espèces de *Pseudo-nitzschia* suggèrent aussi l'existence de phéromones (Fauchot unpublished results, Thorel 2014). Il existe très peu d'information sur la structure des phéromones chez les diatomées. Les quelques références

bibliographiques sur ce sujet indiquent qu'il s'agirait de petites molécules comme des dérivés d'acide gras, des terpènes ou des dipeptides cycliques (Guillard et al. 2013, Frenkel et al 2014). L'existence de phéromone(s) chez les diatomées toxiques du genre *Pseudo-nitzschia*, la dynamique de leur production au cours du cycle de vie ainsi que leur structure restent donc à explorer.

La première étape du projet a nécessité d'optimiser les conditions d'induction de la reproduction sexuée (RS) chez différentes espèces du genre *Pseudo-nitzschia*. Il s'agissait de réussir à obtenir un succès élevé de RS pour des biomasses suffisamment importantes pour pouvoir ensuite détecter des phéromones. Des tests d'intensité lumineuse et de concentrations cellulaires initiales ont été menés. Des tests de concentrations des cultures par centrifugation douce avant l'induction de la RS ont aussi été réalisés. Les résultats de ces tests nous amenés à utiliser des croisements de souches de *P. fraudulenta*, à 16°C et 100  $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  dans 60 ml de milieu de culture K/2+Si. Par contre, la concentration des cultures par centrifugation avant les expériences, afin d'obtenir des biomasses supérieures, n'a été possible car celle-ci inhibe l'induction de la RS. Lors d'une expérience de RS, des échantillons de milieu de cultures, de chacune des souches (PNfra30 TS – et PNfra31 TS+) ont été prélevés pour effectuer des analyses en spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Avant analyses, les échantillons ont été préfiltrés sur membranes de porosité 0.2  $\mu\text{m}$  pour éliminer les cellules algales et débris cellulaires, puis concentrés et dessalées sur cartouche Sep-pak C18.

Des analyses comparatives entre les milieux de culture sans diatomées, avec l'une des souches (PNfra30 TS – ou PNfra31 TS+) ou avec les deux souches ont été réalisées en LC-MS/MS sur la plateforme métabolomique PRISMM (Figure 1). Des molécules ont été détectées dans le milieu de culture seul. Quelques molécules de m/z 352 et 374 semblent disparaître lors de la culture des diatomées. Les résultats des analyses comparatives des exométabolomes avec le milieu de culture indiquent la présence de molécules uniquement dans l'une des souches, chez la souche TS+. L'échantillon correspondant au croisement des deux souches après l'apparition des stades sexués ne présente pas une composition différente par rapport à la souche TS+. Ces résultats semblent suggérer que les cellules TS+ de *P. fraudulenta* synthétisent et excrètent des molécules au stade sexué et cela même en l'absence de cellules du type sexuel opposé. Ce résultat est en accord avec les résultats de Sato et al. (2011). Cette hypothèse demande à être validée en effectuant des analyses sur plusieurs souches de chaque type sexuel pour vérifier si la différence observée est constante. Aucune nouvelle molécule inductible n'a été détectée lorsque les deux souches étaient en contact, ce qui semble tout de même étonnant par rapport aux études précédentes (Sato et al. 2011, Gilard et al. 2013)

Les molécules détectées à partir de l'exométabolome de TS+, de m/z de 242, 284 et 301 sont des molécules hydrophobes, éluées à de fort pourcentage d'acétonitrile. Seule la molécule de m/z 301 a pu être fragmentée après optimisation. Toutefois les résultats de MS/MS du pic 301 ne permettent pas l'identification et ne semblent pas correspondent avec l'analyse d'un peptide. Ces premiers résultats en spectrométrie de masse demandent à être confirmés. Il est important de multiplier les cultures de manière à concentrer d'avantage les échantillons et permettre une identification.

Par ailleurs si les analyses en LC-MS/MS ont permis de mettre en évidence un exométabolome spécifique à TS+, il sera nécessaire d'utiliser d'autres techniques d'analyses comme la GC-MS/MS pour identifier ces molécules.

#### **Budget :**

Consommables (flacons de culture, seringues, filtres-seringues, cartouches C-18) : 719.18 €

Analyses : 200 €

#### **Pas de demande de renouvellement pour 2016**



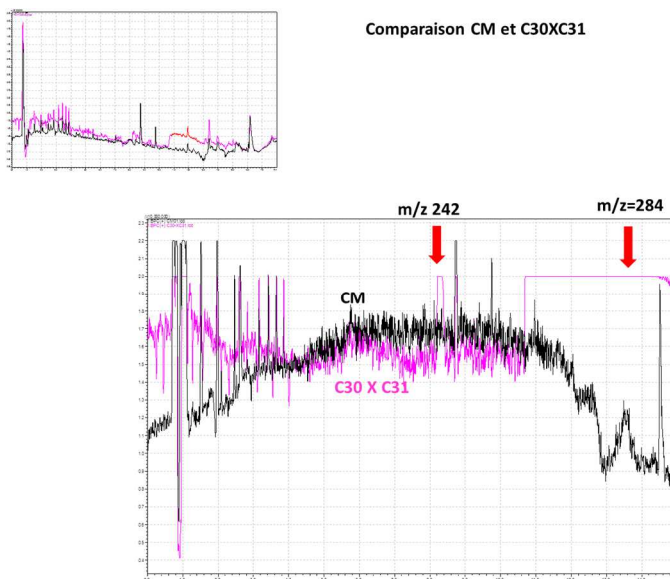
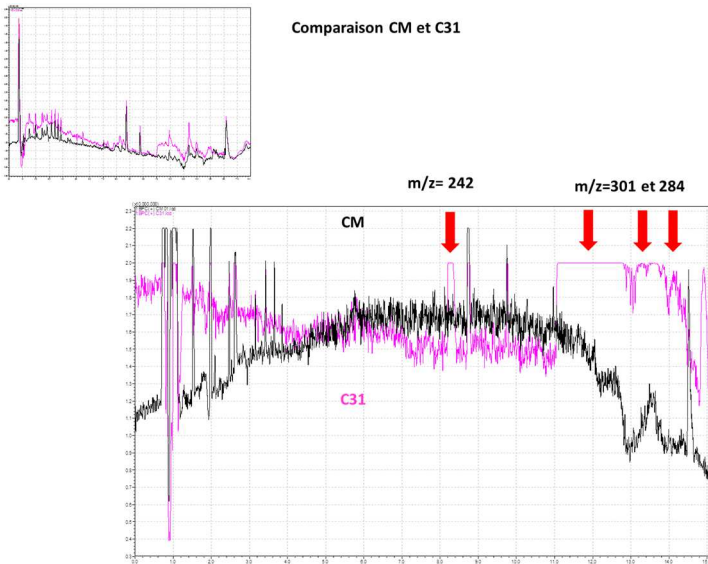
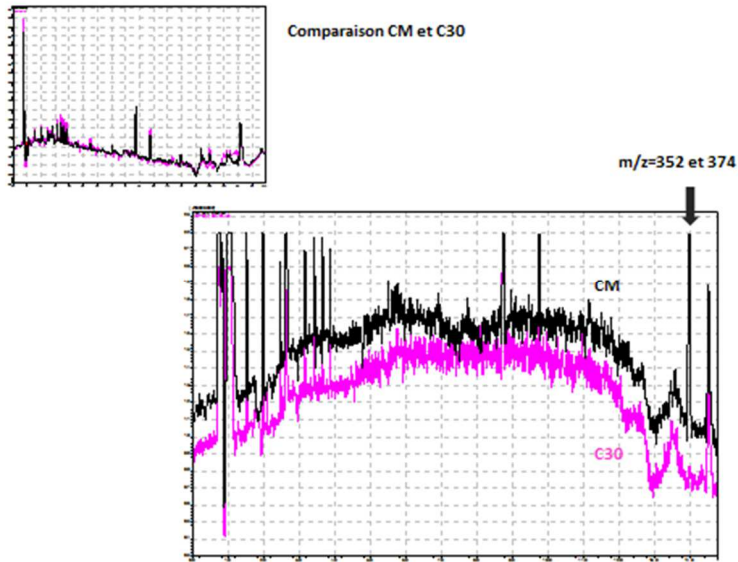


Figure 1 : Analyses comparative en LC-MS/MS des exométabolomes de C30 (TS-) C31(TS+) et du croisement C30x31. Le milieu de culture CM est utilisé comme référence.

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes / inter-sites

### Caractérisation moléculaire de cellules souches en culture et tri cellulaire chez deux modèles aquatiques non-conventionnels, la seiche et la petite roussette

#### Axe transversal de BOREA

- *Cultures cellulaires modèles aquatiques non-conventionnels (coord : S. Bordenave/C. Heude/C. Lelong)*

#### Projet Inter-sites

**Co-responsable 1** : Baratte Sébastien, équipe 2, Paris, [baratte@mnhn.fr](mailto:baratte@mnhn.fr)

**Co-responsable 2** : Gautier Aude, équipe 2, Caen, [aude.gautier@unicaen.fr](mailto:aude.gautier@unicaen.fr)

**Autre participant** : Andouche Aude, équipe 2, Paris, [andouche@mnhn.fr](mailto:andouche@mnhn.fr)

**Mots Clés** : immunocytochimie, cytométrie en flux, *Sepia officinalis*, *Scyliorhinus canicula*

#### Projet :

Des cultures cellulaires de cellules souches ont été initiées chez deux modèles aquatiques non-conventionnels, la seiche et la petite roussette, au sein de l'équipe 2 sur les sites de Paris et Caen respectivement.

Ce projet avait pour objectif de **caractériser plus finement les types cellulaires en culture** par **immunomarquage** tout en préservant l'organisation tridimensionnelle des cultures et en initiant des analyses en **cytométrie en flux**.

Des cultures primaires de spermatogonies avaient été établies chez la petite roussette. Les spermatogonies cultivées n'ont pu être caractérisées par immunomarquage qu'après projection des cellules sur une lame par cytopspin car nous ne parvenions pas à garder les cellules en place dans les puits lors de ce marquage. Notre objectif était ici de **préserver la structure tridimensionnelle des cultures** pour cette analyse. Une première stratégie a été de maintenir les spermatogonies en culture sans enrichissement afin d'assurer un tapis somatique important pour l'ancrage des colonies de spermatogonies. Cette culture, pourtant enrichie en Gdnf, facteur de croissance des spermatogonies, a vite été envahie par les cellules somatiques. Une seconde stratégie a été de changer le support de culture. Nous avons opté pour des **chambres de cultures sur lame**, support utilisé sur le site de Paris. Ce type de support, recouvert d'une fine couche de gélatine, a permis de réaliser des immunomarquages tout en préservant la structure tridimensionnelle des colonies de spermatogonies.

Les cellules souches spermatogoniales de petite roussette et les cellules souches de ganglions nerveux de seiche sont supposées exprimer en commun des **marqueurs moléculaires de pluripotence**. Un panel d'anticorps ciblant les cellules souches embryonnaires humaines et conditionné en faibles quantités a été acheté et testé sur les deux espèces. Les molécules ciblées sont les trois facteurs de transcription essentiels à la pluripotence **Sox2, Nanog et Oct4**, ainsi que deux antigènes de surface **TRA-1-60** et Stage Specific Embryonic Antigen-4 (**SSEA-4**). Chez la seiche, l'anticorps ciblant Sox2 a donné un signal sur des coupes passant par le cerveau. L'expression de ce facteur a été localisée, non pas dans le cerveau, mais dans des cellules de l'entonnoir. Les autres anticorps n'ont pas donné de signal. De façon cohérente, le test de ces anticorps sur des cultures de cerveaux dissociés n'a pas donné de signal. Chez la petite roussette, l'anticorps ciblant Nanog n'a pas donné de signal dans la gonade mais sa séquence n'a pas été détectée non plus dans les banques de transcrits disponibles. L'antigène SSEA-4 a été détecté en surface des spermatogonies avec un marquage intense. L'anticorps anti-Sox2 marque une sous-population des SSEA-4<sup>+</sup>. Un autre anticorps anti-Oct4 (Pou2/Pou5f1)

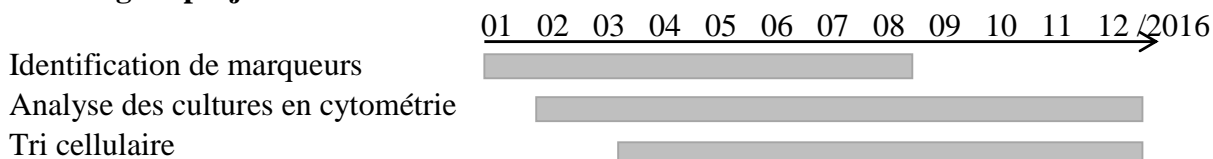
a permis de marquer des spermatogonies en culture. L'anticorps anti-TRA-1-60 reste à tester. Ainsi, ces nouveaux marqueurs associés à la nouvelle technique de culture préservant la structure tridimensionnelle des colonies de spermatogonies nous ont permis d'affiner leur caractérisation moléculaire par comarquages.

Afin d'initier des analyses en **cytométrie en flux**, Aude G. a suivi une formation théorique et pratique sur la plateforme de la structure fédérative ICORE (Interactions Cellules Organismes Environnement). Un premier test sur cellules fraîchement dissociées n'a pas permis de détecter les spermatogonies indifférenciées en raison de leur trop grande dilution par les cellules somatiques. En revanche, après enrichissement en spermatogonies par « differential plating » suivi de 7 jours de culture, des proportions similaires de cellules ont été détectées  $GFR\alpha1^+$ ,  $KIT^+$  et  $SSEA-4^+$ . Cette expérience doit être renouvelée à partir d'une culture plus âgée (1 mois) donc fortement enrichie en spermatogonies avant de passer au tri cellulaire. Ne disposant pas encore de marqueurs moléculaires pour caractériser les cellules souches de ganglions nerveux de seiche, la cytométrie n'a pas été initiée pour ce modèle.

Ainsi, une collaboration a été initiée entre les deux sites avec un partage de savoir-faire (culture sur labtek) et l'achat d'anticorps couteux mutualisé. **Nous souhaitons poursuivre ce projet** avec l'identification de marqueurs moléculaires des cellules souches, qui reste un point de blocage sur le modèle seiche, par exemple des marqueurs des familles FGF et Smad, Piwi, Vasa ou la phosphatase alcaline. De plus, chez les deux modèles, nous initierons ou poursuivrons des analyses en cytométrie en flux jusqu'au tri cellulaire en partageant nos expériences et nos marqueurs (d'apoptose, de suivi de générations cellulaires, de caractère souche...).

### **Demande de renouvellement pour 2016 :**

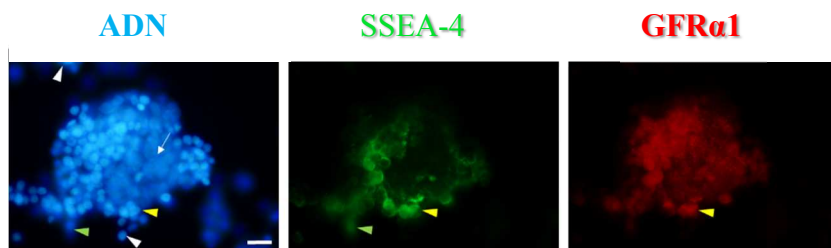
#### **Planning du projet :**



#### **Budget : 1500 euros**

- Plateformes cytométrie en flux et trieur : 300 euros
- Réactifs et consommable : 800 euros
- Frais de missions : 300 euros
- Fourniture en animaux et maintien en élevage : 100 euros

#### **Illustration**



L'immunomarquage de cultures primaires de testicule de petite roussette permet d'identifier les spermatogonies indifférenciées formant des colonies à l'aide du récepteur du GDNF ( $GFR\alpha1$ ) (en rouge) et d'un antigène de surface caractéristique de cellules souches, SSEA-4 (en vert).

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes / inter-sites

### Faisabilité de mesures en impédancemétrie sur des cellules de modèles aquatiques non-conventionnels

#### Axe transversal de BOREA

- Cultures cellulaires modèles aquatiques non-conventionnels (coord : S. Bordenave/C. Heude/C. Lelong)

#### Projet Inter-équipes / inter-sites

**Co-responsable 1** : Heude Clothilde, Equipe 2, Caen, clothilde.heude@unicaen.fr

**Co-responsable 2** : Bordenave Stéphanie, Equipe 4, Concarneau, bordenav@mnhn.fr

Autres participants : Serpentine Antoine, équipe 1, Caen, antoine.serpentine@unicaen.fr ; Kellner Kristell, Equipe 2, Caen, kristell.kellner@unicaen.fr

**Mots Clés** : Impédancemétrie, adhésion cellulaire, prolifération, viabilité.

#### Restitution du projet :

L'impédancemétrie est une technique novatrice qui permet de manière non-invasive et en temps réel, de suivre des cellules en culture. Basée sur la mesure de l'impédance des cellules, cette approche donne des informations quantitatives sur l'état biologique cellulaire (adhésion, prolifération, viabilité, morphologie) en continu, en temps réel et sans marquage.

Au cours de ce projet, l'impédancemétrie a été testée sur les hémocytes de deux espèces de mollusques différentes (huître creuse *Crassostrea gigas* et ormeau *Haliotis tuberculata*).

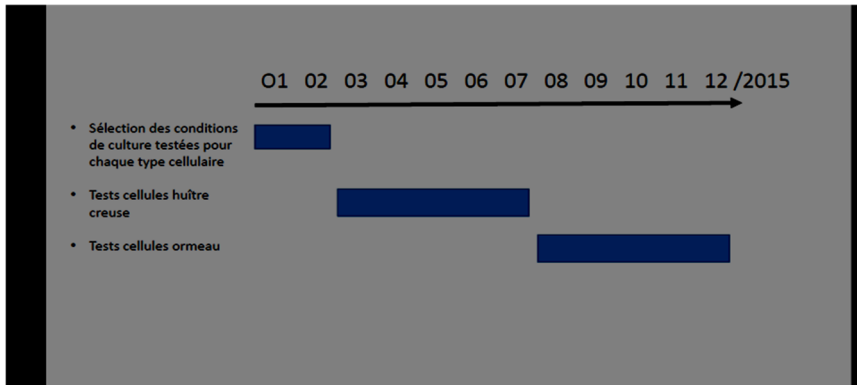
Les expérimentations sur l'huître ont été conduites par les membres de l'équipe 2 impliqués dans le projet. Cette première série d'essais a permis de valider l'utilisation de l'impédancemétrie en milieu salin et à des températures compatibles avec le maintien des cellules de mollusque (20°C). Les résultats obtenus montrent que l'impédancemétrie n'est pas adaptée au suivi des hémocytes d'huître en culture du fait d'une adhésion faible de ce type cellulaire sur support en verre (différents coatings des plaques ont été testés sans amélioration). Le suivi de la culture d'hémocytes d'huître par vidéomicroscopie a par ailleurs montré que cette adhésion était très irrégulière dans le temps et pouvait expliquer pour partie les résultats obtenus en impédancemétrie.

Les premiers résultats en impédancemétrie obtenus sur les hémocytes d'ormeau (équipes 2 et 4) a permis de valider cette approche sur ce type cellulaire. Les conditions de suivi des cellules (concentration cellulaire, cinétique de suivi) ont été caractérisées. La répétabilité des suivis a été établie et un effet dose de polluant (cadmium) mesuré pour validation du suivi.

Ce projet exploratoire a donc permis de valider l'impédancemétrie comme technique de suivi de culture cellulaire en milieu salin. Le premier critère de choix de cette approche est l'adhésion des cellules étudiées qui peut être testée très rapidement.

L'impédancemétrie est une voie pertinente de suivi de culture cellulaire en milieu marin, notamment lorsqu'un criblage est nécessaire (test en plaque 96 puits, 1 à 6 plaques en simultané). Le coût d'une expérimentation (plaque 96 puits) est de 150 euros.

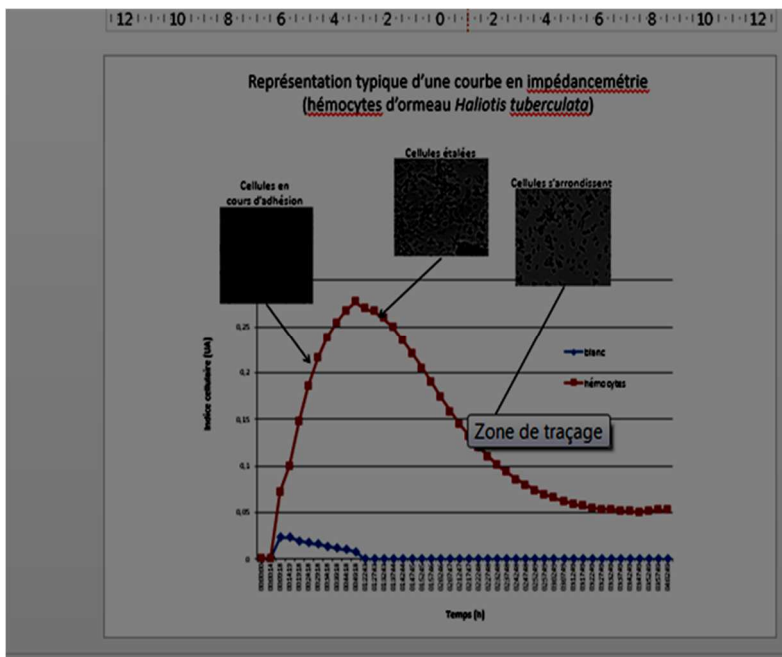
## Planning du projet :



## Budget : 1500 euros

Plateforme d'impédancemétrie Xcelligence, réactifs et consommable spécifiques : 1400 euros

Achat d'animaux : 100 euros



## Demande de renouvellement

### Projet (renouvellement):

#### Application de l'impédancemétrie à l'évaluation de la cytotoxicité des microalgues vis à vis des hémocytes de l'ormeau *H. tuberculata*

Lors d'un premier projet inter-équipes et inter-sites de l'UMR BOREA financé en 2015, une nouvelle approche par impédancemétrie a été testée sur les hémocytes de deux espèces de mollusques marins

(l'huître creuse *Crassostrea gigas* et l'orveau *Haliotis tuberculata*). Cette première série d'essais a permis de valider l'utilisation de l'impédancemétrie sur les hémocytes d'orveau notamment pour des tests de toxicologie *in vitro*.

Dans le cadre d'un programme de collaboration entre le MNHN et IFREMER, nous évaluons l'impact de Dinoflagellés toxiques (Kareniaceae) sur des cellules de mollusques établies en culture primaire (hémocytes, cellules branchiales). En complément des tests cytologiques déjà prévus, le présent projet prévoit d'appliquer l'approche par impédancemétrie afin d'évaluer la réponse des hémocytes en temps réel à la présence des microalgues toxiques. Il sera conduit par une stagiaire de Master 2 en co-supervision entre les co-responsables du projet inter-sites et le laboratoire LER d'Ifremer à Concarneau.

Ce projet permettra de valider une nouvelle approche d'évaluation de la cytotoxicité et de caractériser le mode d'action des toxines microalgales sur les cellules cibles de l'orveau.

### Planning du projet :

	2016	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Mise en place des cultures primaires d'hémocytes / adaptation des microalgues													
Tests de toxicité <i>in vitro</i> / mesures d'impédancemétrie													
Application autres types cellulaires													

### Budget : 1500 euros

Réactifs et consommable Plateforme d'impédancemétrie (6 plaques x 150€): 900 euros

Missions : 500 euros

Achat matériel biologique : 100 euros

## Session 5 : Restitution de projets inter-équipes/inter-sites

### CHICOS : Caryotype Huître Crassostrea

(Demande de renouvellement du projet 2015 CHIC)

Etablissement de caryotypes chez les huîtres *C. gigas* et *C. rhizophorae* et développement des techniques de marquage

#### Axe transversal de BOREA

- Atelier méthodologique Génomique fonctionnelle (coord. G. Rivière / P.J. Lopez)

#### Projet Inter-équipes et Inter-sites

Co-responsable 1 : Lelong C, Equipe 2, Unicaen, [christophe.lelong@unicaen.fr](mailto:christophe.lelong@unicaen.fr)

Co-responsable 2 : Bezault E, Equipe 1, UA, [bezault@univ-ag.fr](mailto:bezault@univ-ag.fr)

Autres participants : Kellner K, Martinez AS (Unicaen, Eq2), Lemoine S (UA, Eq1).

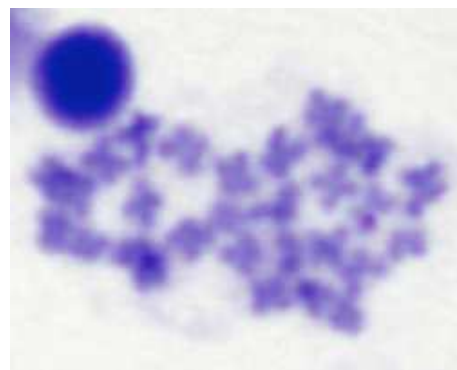
**Mots-Clés : Huîtres, Caryotype, cartographie chromosomique de gènes**

#### Restitution du projet 2015 CHIC :

L'obtention de données cytogénétiques chez *Crassostrea gigas* et *C. rhizophorae* est un outil important pour la compréhension des mécanismes reproducteurs chez l'huître creuse ou sur l'huître des palétuviers et leurs capacité d'adaptation aux facteurs externes, particulièrement en terme de variation et régulation de la ploïdie. Ces données cytogénétiques s'avèrent de plus en plus pertinentes et complémentaires des données moléculaires acquises chez les huîtres pour différentes problématiques de l'UMR.

Au cours du projet CHIC mené en 2015, le protocole d'obtention de caryotypes chez *C. gigas* a été mis en place en optimisant les paramètres de choix des tissus, de choc hypotonique, de fixation et d'étalement des préparations. L'optimisation du protocole d'établissement de figures de caryotypes ayant été plus long qu'initialement prévu, la seconde partie du projet, à savoir le développement des approches de FISH, n'a pas pu être envisagé pleinement. Par la suite, le transfert de ce protocole vers *C. rhizophorae* a été entrepris. L'interaction entre les deux équipes repose sur un accès plus aisé à l'équipement nécessaire à Caen (système d'acquisition d'image). Pour l'espèce *C. rhizophorae*, les échantillonnages et les caryotypes ont été réalisés à l'UA, puis l'acquisition à Caen.

A l'issue du projet CHIC, des caryotypes exploitables ont été obtenus sur *C. gigas*, permettant d'ores et déjà de répondre partiellement à la plasticité génétique entre les animaux diploïdes et triploïdes. Si les résultats préliminaires sont encourageants, le protocole reste à améliorer pour obtenir des figures métaphasiques plus nombreuses et plus fines pour l'exploitation en FISH. Des essais ont été également menés chez *Crassostrea rhizophorae*. Cependant les résultats préliminaires, peu satisfaisants, montrent la nécessité d'optimiser encore le protocole chez cette espèce, notamment quant au choix des tissus prélevés et des conditions de fixations.



Caryotype d'huître creuse triploïde  
*Crassostrea gigas*



Ainsi, dans le cadre de l'atelier « génomique fonctionnelle », nous souhaitons renouveler le projet sur 2016 sur les espèces *C. gigas* et *C. rhizophorae*.

## STRATEGIE D'ETUDE POUR UN RENOUVELLEMENT DU PROJET (CHICOS 2016)

Les objectifs de ce projet sont :

i) L'amélioration des protocoles d'obtention de figures métaphasiques. Les résultats préliminaires ont montré que la méthodologie semble maîtrisée, mais certains points sont à optimiser. Notamment, le choc hypotonique reste à améliorer pour accentuer l'éclatement des enveloppes pour une meilleure dispersion des chromosomes. En effet, les figures métaphasiques obtenues montrent que des chromosomes ne sont pas complètement évacués du noyau, faussant le dénombrement. Chez *C. gigas*, le prélèvement des animaux et le caryotypage seront réalisés à l'Unicaen. Chez *C. rhizophorae*, le prélèvement des animaux sera réalisé par l'UA, ainsi que les caryotypes sur la base du protocole obtenu. L'acquisition des caryotypes des 2 espèces sera réalisée à Caen.

ii) Le transfert du protocole de caryotypes vers d'autres types cellulaires. Si le protocole a été optimisé prioritairement sur les branchies de *C. gigas*, certaines problématiques chez *C. gigas* et *C. rhizophorae* nécessitent d'employer ces approches cytogénétiques à d'autres cellules, notamment sur les embryons, au niveau des cellules gonadiques ou des tissus soumis à régulation par les contaminants.

iii) Le développement de la technique FISH. S'il n'a pas été possible d'initier des marquages en FISH au cours du précédent projet, le protocole expérimental a été d'ores et déjà défini pour être mené au cours du premier semestre 2016. Pour valider le protocole, il sera réalisé à l'aide de sondes dirigées contre les gènes codant les ARN ribosomiques nucléolaires (45S) et nucléoplasmiques (5S) et l'histone H3 (Barranger et al, 2015, Aquatic toxicology). Ces premiers essais permettront de valider le protocole, notamment pour une double localisation chromosomique. Cette méthodologie sera initiée à Caen (disposant de l'ensemble du matériel nécessaire, notamment pour la microscopie à fluorescence). Par la suite, des préparations réalisées à l'UA seront hybridées à Caen. De même, les données sur *C. rhizophorae* étant peu nombreuses, les sondes développées pour *C. gigas* seront employées chez *C. rhizophorae*, au regard de leur proximité phylogénétique.

iv) Le transfert du protocole de FISH pour des gènes d'intérêt chez les deux espèces. La méthodologie FISH permettra d'obtenir des cartographies plus fines chez l'huître et la synténie de clusters de gènes impliqués dans la reproduction et le déterminisme sexuel.

**Planning du projet :**

Mois											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Optimisation du protocole											
Transfert du protocole de caryotype											
Sur <i>Crassostrea rhizophorae</i>											
			Sur d'autres types cellulaires et embryons								
Développement de la méthodologie FISH											
Mise au point et validation											
				Avec les gènes d'intérêt							

**Budget :**

Matériels biologiques et missions (Commandes et prélèvements d'animaux, déplacements) : 600€

Réactifs chimiques (de préparation, hybridation et révélation) : 800€

## Session 6 : Propositions de projets inter-équipes / inter-sites

### Evaluation des effets biologiques de l'acide domoïque produit par les microalgues du genre *Pseudo-nitzschia* sur les mollusques

#### Axe transversal de BOREA

- *Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)*

#### Projet Inter-équipes

**Co-responsable 1 :** SERPENTINI Antoine, équipe 1, Caen, antoine.serpentini@unicaen.fr

**Co-responsable 2 :** FAUCHOT Juliette, équipe 5, Caen, juliette.fauchot@unicaen.fr

Autres participants éventuels :

COSTIL Katherine, équipe 1, Caen, katherine.costil@unicaen.fr

LEBEL Jean-Marc, équipe 1, Caen, jean-marc.lebel@unicaen.fr

CLAQUIN Pascal, équipe 5, Caen, pascal.claquin@unicaen.fr

**Mots Clés :** *acide domoïque, Pseudo-nitzschia, hémocytes, développement embryo-larvaire, métamorphose*

#### Projet :

Au sein des écosystèmes côtiers, la synthèse de toxines par certaines espèces phytoplanctoniques et leur accumulation dans différents compartiments des réseaux trophiques marins engendrent des risques sanitaires importants, en particulier liés à la consommation de coquillages contaminés. Ces événements toxiques ont ainsi un impact socio-économique significatif sur les filières conchylicoles et la pêche. En Baie de Seine, des efflorescences d'ampleur variable de diatomées toxiques du genre *Pseudo-nitzschia* ont lieu chaque année. Ces microalgues produisent une neurotoxine, l'acide domoïque (AD), qui est mesurée en concentrations variables dans le phytoplancton et les mollusques filtreurs suite aux efflorescences. Les précédentes études menées en Baie de Seine sur ces efflorescences toxiques (Klein et al 2010, Thorel et al. 2014, Thorel 2014) ont permis d'acquérir des connaissances clés sur la diversité spécifique des communautés de *Pseudo-nitzschia*, sur la phénologie de leurs efflorescences et sur l'écophysiologie de ces espèces. Ces travaux ont en outre permis de développer une collection de culture de différentes espèces toxiques de *Pseudo-nitzschia* de Baie de Seine.

Les effets de l'acide domoïque ont déjà été assez bien caractérisés chez les mammifères et les oiseaux (Work et al. 1993, Scholin et al., 2000). Chez les Mollusques marins, très peu d'études relatent les effets de l'acide domoïque qui, néanmoins, pourrait moduler certains de leurs paramètres physiologiques. Ce projet aura donc pour objectif d'évaluer les effets biologiques de l'acide domoïque produit par les diatomées du genre *Pseudo-nitzschia* sur deux espèces de Mollusques.

Les effets recherchés concerneront l'analyse des paramètres immunitaires d'un Gastéropode, l'ormeau *Haliotis tuberculata* et du développement embryo-larvaire et de la métamorphose d'un Bivalve, l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Les paramètres immunitaires seront étudiés à partir de cultures primaires d'hémocytes *via* une approche *in vitro*. La viabilité des cellules, l'activité phagocytaire, la production de ROS et la stabilité des membranes lysosomales seront notamment mesurées. Concernant le développement embryo-larvaire des huîtres creuses, les tests seront réalisés afin de déterminer non seulement le pourcentage d'anomalies du développement, paramètre généralement utilisé en embryotoxicologie, mais également de calculer la proportion des différents types d'anomalies observables. Le test de la métamorphose de *C. gigas* a été optimisé au laboratoire et a fait l'objet de très peu d'études écotoxicologiques en dehors de celles réalisées au sein de notre groupe. En complément des effets sur les premiers stades de développement, nous pourrons donc tester l'impact de l'AD sur un stade larvaire plus âgé, le stade pédivéligère.

Ce projet s'inscrit dans une collaboration inter-équipe de l'UMR entre l'équipe 1 « Evolution des Biominéralisations et Adaptation aux Contraintes Environnementales » (responsable de site Pr. JM Lebel) et l'équipe 5 « Diversité et Interactions dans les Ecosystèmes (responsable de site Pr. P. Claquin) qui va se concrétiser par un stage de Master 2 de janvier à juillet 2016. Ce projet se situe à l'interface des préoccupations scientifiques des deux équipes. Cette collaboration inter-équipe est basée, d'une part, sur les connaissances de l'écophysiologie et de l'écologie de *Pseudo-nitzschia* apportées par J. Fauchot et P. Claquin (équipe 5) et, d'autre part, sur les compétences de K. Costil, A. Serpentine et J.-M. Lebel (équipe 1) dans l'analyse des réponses des Mollusques marins aux stress environnementaux.

### Planning du projet :

	janvier	février	mars	avril	mai	juin	juillet	août	septembre	octobre	novembre	décembre
Culture de <i>Pseudo-nitzschia</i>												
Extraction de l'acide domoïque												
Tests de toxicité sur hémocytes												
Tests de toxicité sur larves												
Tests de toxicité sur embryons												
Analyses												

### Budget : 1 500 euros

Réactifs et consommable : 800 euros

Plateformes cytométrie en flux et trieur : 200 euros

Géniteurs d'huîtres : 500 euros

## Session 6 : Propositions de projets inter-équipes / inter-sites

### Approche spatiale et fonctionnelle des composés organiques impliqués dans la synthèse coquillière de la seiche (*Sepia officinalis*)

#### Axe transversal de BOREA

- *Impact des changements globaux (coord : N. Niquil/ P. J. Lopez)*

#### Projet Inter-équipes

**Co-responsable 1** : Bonnaud-Ponticelli, Laure, Eq. 2, MNHN, [bonnaud@mnhn.fr](mailto:bonnaud@mnhn.fr)

**Co-responsable 2** : Pascal Jean, Lopez, Eq. 1, MNHN, [pjlopez@mnhn.fr](mailto:pjlopez@mnhn.fr)

Autres participants : Le Pabic Charles ([clepabic@mnhn.fr](mailto:clepabic@mnhn.fr)), Eq. 1 & 2, Gilles Luquet ([luquet@mnhn.fr](mailto:luquet@mnhn.fr)), Eq. 1.

**Mots Clés** : *Transcriptome – Protéome – Sac coquillier – Bouclier dorsal – Phragmocône*

#### Projet :

Au sein des Mollusques, les Sepiidae représentent un modèle unique d'organismes biominéralisateurs par les spécificités de leur coquille interne cloisonnée et calcifiée : l'os de seiche est une synapomorphie des sepiidés. Comme pour tous les organismes calcifiants, l'acidification des océans peut impacter le processus de minéralisation. Des résultats récents ont cependant montré chez l'adulte et le juvénile à pH acide une hypercalcification de certaines parties de la coquille suggérant une régulation inattendue des carbonates. Les composants de la coquille et les mécanismes de calcification étant encore peu connus, l'élaboration d'hypothèses est prématurée et doit s'appuyer sur plus de données.

Les protéines impliquées dans la synthèse de cette coquille à la structure complexe n'avaient jamais fait l'objet d'étude. En 2014 et 2015 des travaux de protéomique ont été menés permettant d'identifier certains composés et les transcrits des tissus impliqués dans la synthèse coquillière ont récemment été séquencés et mis en relation avec nos données de protéomiques. Grâce à ces nouvelles informations, il a ainsi été possible d'identifier quelques dizaines de protéines. Si les fonctions de la majorité d'entre elles ne sont pas encore connues, certaines ont déjà été identifiées dans d'autres groupes. Leur localisation éventuelle dans le sac coquillier (dorsal et ventral) pourrait permettre d'élaborer des hypothèses sur l'origine des différents éléments de la coquille, bouclier dorsal et phragmocone respectivement. Une première approche d'immunomarquage sur des protéines intervenant dans la constitution et dans la fonction de la matrice (transferrin, chitinase, anhydrase carbonique) permettra d'améliorer notre compréhension « fonctionnelle » du rôle de la matrice protéique dans la synthèse coquillière de la seiche.

La collaboration entre les équipes 1 (étude des mécanismes de biominéralisation) et 2 (étude des mécanismes moléculaires mis en œuvre lors du développement de la seiche) permet

aujourd'hui d'envisager une meilleure compréhension de la formation coquillière de ce mollusque tant au cours des stades précoces de développement que chez l'adulte.

### Planning du projet :

Nous souhaitons

- 1) compléter les analyses protéomiques en 2D des deux parties de la coquille
- 2) effectuer des essais d'immuno-marquage sur les sacs coquilliers des juvéniles.

Des animaux peuvent être utilisés dès maintenant mais des séries d'animaux devront d'être spécifiquement fixés pour ce projet.

Février : Protéomique 2D, finalisation.

Mars-Avril : premiers tests sur des juvéniles. Mise au point du protocole immuno sur structures isolées et sur coupes.

Mai-Juillet : Immuno-marquage sur les stades 23 à 30 avec deux Anticorps ; anti-chitinase et – transferrine ; éventuellement sur coupes.

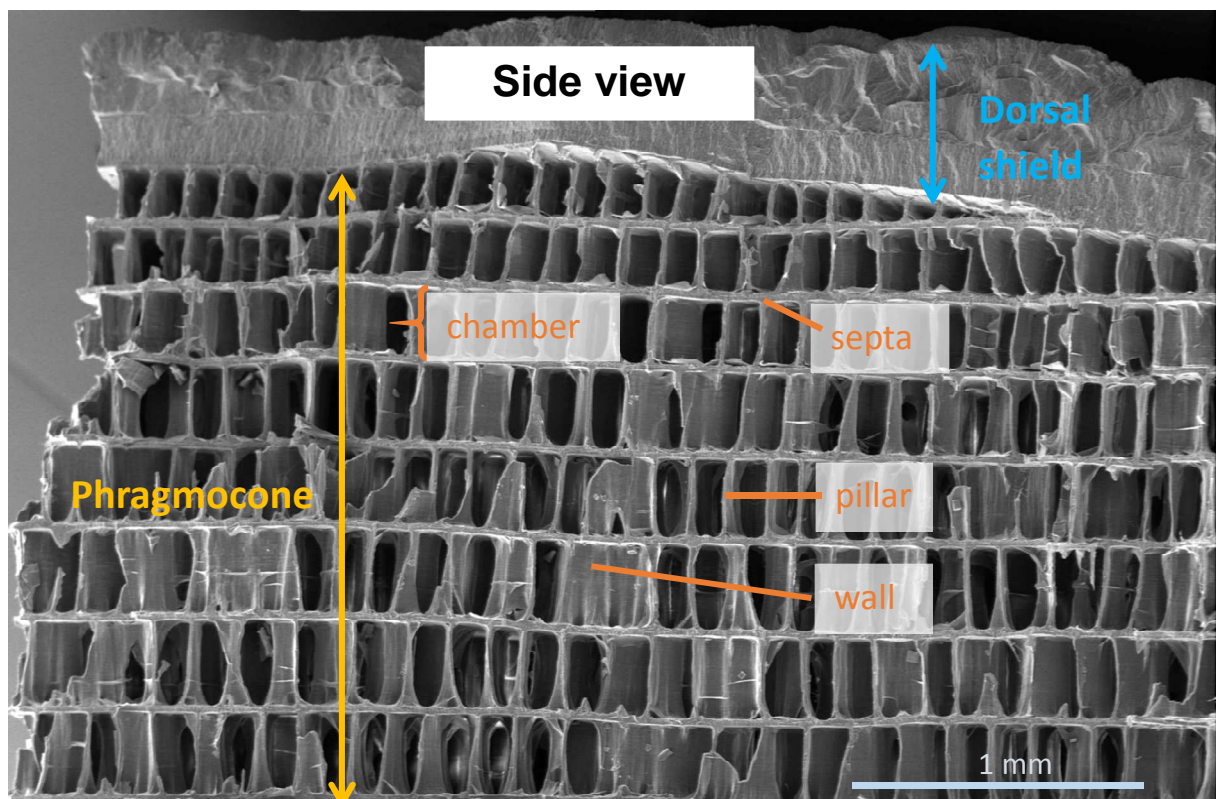
Septembre-Décembre : Fin de l'immuno-marquage avec un anti-anhydrase carbonique. Analyse des résultats.

### Budget : La demande est de 1500 euros

Le coût total du projet s'élève à 1710 euros

Kit d'analyse protéomique 2D (345 euros)

Anticorps : Anticorps antichitinase (ABCAM, 485 euros); anti-transferrin (ABCAM 420 euros), anti-anhydrase carbonique (ABCAM, 460 euros).



## Session 6 : Propositions de projets inter-équipes / inter-sites

### **Communication chimique et contrôle du comportement reproducteur chez *Heterotis niloticus*.**

**Utilisation de la vitellogénine localisée dans le mucus pour faciliter le sexage des reproducteurs, pour permettre la détermination du stade de maturité des femelles et faciliter la formation de couples.**

#### **Axe transversal de BOREA**

- *Communication chimique (coord : J. Henry/ C. Zatylny-Gaudin) et LMI EDIA (coord. J.-F. Renno)*

#### **Projet Inter-équipe et Inter-sites**

**Co-responsable 1 :** Henry, Joël, Equipe 2, Caen, joel.henry@unicaen.fr

**Co-responsable 2 :** Nunez, Jésus, Equipe 7, Montpellier/Bolivie/Pérou/Côte d'Ivoire, jesus.nunez@ird.fr

**Mots Clés :** *Vitellogénine, mucus, géniteurs, transcriptomique, protéomique*

#### **Projet :**

Les molécules de communication de type phéromone chez les poissons ont été mises en évidence chez plusieurs espèces et elles contribuent ou induisent la parade nuptiale ou plus généralement le comportement reproducteur au moment de l'émission des gamètes.

Chez *Heterotis niloticus*, il n'existe aucune donnée sur l'existence de ces molécules, alors que le comportement reproducteur est très élaboré chez cette espèce avec plusieurs étapes, allant de la formation du couple qui va défendre un territoire, jusqu'à la construction d'un nid où seront déposés les œufs, au moment d'une sorte de parade nuptiale.

L'existence d'une communication chimique entre reproducteurs des 2 sexes semble donc établie par les données éthologiques même si aucune molécule n'a été identifiée à ce jour. Néanmoins, des travaux récents montrent chez certaines espèces de poissons la présence de vitellogénines (Vtg) localisées dans le mucus des femelles en gamétogénèse (Wang et al, 2015).

L'objectif de ce projet est de lever des verrous techniques bien identifiés afin de mettre en place un parcours zootechnique robuste permettant de développer l'aquaculture de cette espèce en Côte d'Ivoire, ces verrous étant d'une part le sexage des géniteurs pour lesquels aucun caractère secondaire discriminant ne permet de distinguer les mâles des femelles et d'autre part le signal chimique induisant la formation des couples. La présence de Vtg dans le mucus des femelles pourrait constituer le signal chimique recherché pour effectuer un sexage à l'aide d'un test immunologique rapide de terrain non stressant, pour déterminer le stade de maturité des femelles si la quantité de Vtg au niveau du mucus est estradiol dépendante et enfin pour induire la formation des couples si les mâles sont capables de détecter la Vtg de façon quantitative.

Pour répondre à ces questions, la première étape consiste à caractériser la ou les Vtg(s) par une approche transcriptomique réalisée au niveau du foie de femelles en gamétogénèse et/ou matures. Un transcriptome annoté sera assemblé en collaboration avec la plateforme ABiMs de la station biologique de Roscoff.



Afin de vérifier la présence de Vtg(s) au niveau du mucus, le protéome du mucus sera caractérisé chez les 2 sexes à maturité sur la plateforme Proteogen par une approche en nLC-MALDI-TOF/TOF (SF ICORE 4206, Université de Caen).

Enfin, une corrélation entre la concentration de Vtg(s) au niveau du mucus des femelles et le stade de maturité sexuelle sera recherchée par une analyse protéomique quantitative (plateforme EdyP, CEA, iRTSV-BGE, Univ. Grenoble) complétée par un suivi histologique de la gonade et du taux plasmatique de 17 $\beta$ -estradiol.

Dans le cadre d'une approche comparée, ces travaux pourront rapidement être transposés à l'espèce sœur amazonienne de l'*Heterotis niloticus*, l'*Arapaima gigas* qui présente les mêmes problématiques dans la mise en place des cycles d'élevage.

Les approches transcriptomiques et peptidomiques seront réalisées par l'équipe 2, l'équipe 7 prendra en charge l'histologie et le suivi du taux de 17 $\beta$ -estradiol plasmatique.

Ce travail sera réalisé en partie dans le cadre de la thèse de monsieur Daniel Koua N'ZI, qui séjournera en France, au Pérou et en Bolivie au cours du premier semestre 2016 (financement ESA-C2D "Ecole Supérieure d'Agronomie - Contrat de Désendettement et de Développement".)

#### **Planning du projet :**

- Echantillonnage de foie et de mucus programmé en Février 2016 pour *Heterotis* (mission de Joël Henry, financée par le projet ESA-C2D)
- Séquençage NGS en mars 2016
- Assemblage et annotation en avril 2016
- Protéomique qualitative en mai-juin 2016
- Protéomique quantitative en septembre-octobre 2016
- Suivi histologique gonadique (démarrage en 2016)
- Dosage du 17 $\beta$ -estradiol plasmatique (dernier trimestre 2016 - premier semestre 2017)

#### **Budget : 1500 Euros + Financement LMI EDIA et projet C2D**



*Heterotis niloticus*, âgé de 8 mois, 45 cm LT.

#### **Références bibliographiques**

- Bazáes, A., Olivares, J. & Schmachtenberg, O. (2013). Properties, Projections, and Tuning of Teleost Olfactory Receptor Neurons. *J. Chem. Ecol.*, 39, 451-464.
- Stacey, N. (2003). Hormones, pheromones and reproductive behavior. *Fish Physiol Biochem*, 28, 229-235.
- Stacey, N. and Sorensen, P. W. 2005. Reproductive pheromones. *Behav. Physiol. Fish* 24:359-412.
- Wang J, Shan R, Zhang X, Tian H, Wang W, Ru S (2015). Development of a lipovitellin-based sandwich ELISA for quantification of vitellogenin in surface mucus and plasma of goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicol Environ Saf.* 120:80-7.