

Sujet de thèse: Interactions entre proliférations de cyanobactéries et microbiote des poissons téléostéens d'eau douce

Directeur de thèse:

Duperron

sebastien.duperron@mnhn.fr

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

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

Marie

Equipe:

Cyanobactéries, Cyanotoxines et Environnement, 12 rue Buffon, 75005 Paris, (responsable : C. Bernard)

L'équipe Cyanobactéries, Cyanotoxines et Environnement s'intéresse à l'écotoxicologie, l'écologie microbienne et l'écologie chimique des écosystèmes aquatiques continentaux et tout particulièrement à la diversité taxonomique, au rôle fonctionnel ainsi qu'aux impacts écotoxicologiques des cyanobactéries.

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

Laming S.R., Szafranski, K.M., Rodrigues, C.F., Gaudron, S.M., Cunha, M.R., Hilario, A., Le Bris N., Duperron, S. (2015) PLoS One 10(12): e0144307

Szafranski, K.M., Piquet, B., Shillito, B., Lallier, F.H., Duperron, S. (2015) Deep-Sea Res. I. 101:7-13

Szafranski, K.M., Deschamps, P., Cunha, M.R., Gaudron, S.M., Duperron, S. (2015) Frontiers Microbiology 6:162

Le Manach S., Sotton B., Huet H., Duval C., Paris A., Marie A., Yéprémian C., Catherine A., Mathéron L., Vinh J., Ederly M., Marie B. (2018) Environmental Pollution 234, 523-537.

Qiao Q., Le Manach S., Sotton B., Huet H., Duvernois-Berthet E., Paris A., Duval C., Ponger L., Marie A., Mathéron L., Vinh J., Bolbach G., Djediat C., Bernard C., Ederly M., Marie B. (2016) Scientific Reports, 6: 32459.

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

Une question émergente en écologie concerne l'importance des interactions entre les organismes et le microbiote qu'ils hébergent (1). L'individu est désormais considéré comme un holobionte dont la physiologie résulte de leurs interactions. Localisé à l'interface entre l'hôte et son environnement, le microbiote influence de nombreux processus (nutrition, développement, résistance aux stress, comportement). Bien qu'il s'agisse d'un maillon important des écosystèmes, ce microbiote reste encore souvent peu pris en compte lorsqu'on aborde des questions environnementales.

En milieu lacustre, les efflorescences de cyanobactéries sont des événements naturels fréquents et récurrents, favorisés par l'eutrophisation des eaux. Elles modifient la structure des communautés microbiennes. Souvent favorisées par les apports anthropiques en nutriments, elles posent des problèmes environnementaux et de santé publique. Elles peuvent provoquer des mortalités massives, en particulier chez l'ichtyofaune, en raison de l'anoxie des eaux ou de la production de métabolites secondaires bioactifs souvent associés aux proliférations. Si les effets de l'exposition à ces métabolites sont relativement connus chez les vertébrés (2), on ignore encore largement quel est l'impact des efflorescences de cyanobactéries sur la structure et le fonctionnement du microbiote associé aux poissons téléostéens: effets délétères ou sources de nutriments? Des rôles du microbiote dans la protection contre les effets des métabolites secondaires, ou dans l'assimilation de la ressource alimentaire peuvent être suspectés.

Objectif et approches

Ce projet a pour objectif d'étudier les variations de la structure et du fonctionnement du microbiote associé aux poissons téléostéens en réponse aux événements de prolifération de cyanobactéries, et l'influence réciproque que les poissons, avec leurs microbiotes, peuvent avoir sur la dynamique des communautés de cyanobactéries des lacs eutrophisés.

Pour ce faire, une approche expérimentale sera menée à plusieurs échelles. Des expositions à des cultures de cyanobactéries en conditions contrôlées (microcosmes) permettront de mettre en évidence l'influence de l'exposition à des cultures de bactéries, productrices de métabolites secondaires bioactifs (antibiotiques, toxines...) chez un poisson modèle, le médaka *Oryzias latipes*. Les effets sur les organes et le microbiote associé seront analysés. Nous préciserons les conditions d'exposition optimales et identifierons les facteurs les plus discriminants pour le microbiote.

Des expositions en mésocosmes seront menées en parallèle sur la plateforme expérimentale aquatique de l'Ecotron PlanAqua, dans des conditions plus proches d'une situation naturelle. Différentes espèces de poissons courantes des lacs européens, aux régimes alimentaires contrastés, seront exposées à des efflorescences de cyanobactéries induites. Nous étudierons simultanément le microbiome associé à différents compartiments (tissus des poissons, excréments, colonne d'eau, sédiment) afin de mettre en évidence les interactions et les potentiels effets réciproques.

Enfin, une expérimentation en conditions quasi naturelles sera menée dans les grands lacs artificiels de l'Ecotron dans le cadre d'une expérience d'eutrophisation déjà en cours. Des poissons seront encagés dans les différents plans d'eau eutrophisés ou non afin d'étudier l'effet global de l'eutrophisation et des proliférations, et comparerons ces résultats aux observations en micro- et mésocosmes.

Les communautés microbiennes associées aux poissons (peau, tube digestif, branchies, fécès) et aux différents compartiments de leur environnement (eau, sédiment) seront caractérisées sur le plan taxonomique et fonctionnel. Les modifications de composition seront suivies par séquençage à haut débit (métabarcoding sur l'ARNr 16 & 18S), et leur densité visualisée par hybridation in situ (FISH). Les métabolismes associés seront explorés en parallèle à l'aide d'outils de métabolomique globale non-ciblée. L'état physiologique des poissons sera étudié par anatomopathologie. Les paramètres physico-chimiques des environnements seront suivis (sondes multi-paramètres).

Les résultats permettront de déterminer si le microbiote est modifié par les événements d'efflorescence de cyanobactéries ; s'il participe à la dégradation des métabolites secondaires et s'il permet de tirer parti de tels épisodes pour la nutrition ; et enfin quels paramètres accentuent ces variations (apport de N/ P, durée d'exposition, T, qualité de lumière...). Des retombées sont possibles dans les domaines de la conservation des écosystèmes, et dans celui des pratiques d'élevage des poissons puisque les efflorescences touchent également les bassins d'aquaculture (3).

(1) McFall-Ngai M et al. 2013. PNAS 110: 3229-3236.

(2) Sotton B et al. 2017. Scientific reports 7: 4051.

(3) Llewellyn MS et al. 2015. Roles and mechanisms of parasitism in aquatic microbial communities, 109

Stratégie de publication:

Les travaux sur les microbiotes de téléostéens s'intéressent en général à la nutrition (aquaculture). Les interactions entre hôte, microbiote et environnement lors de stress écotoxicologiques sont moins étudiées, ce qui constitue l'aspect innovant du projet, et

permettra de publier dans des revues Q1 d'écologie microbienne / écotoxicologie.

Une première publication sera préparée en fin d'année 1 sur l'impact des expositions en microcosmes. Une seconde portera sur les expériences en mésocosmes au cours de la troisième année. L'expérience d'exposition dans les bassins eutrophisés produira des résultats publiables la troisième année. Le doctorant participera à au moins une conférence chaque année, les congrès envisagés étant ceux de l'International Symbiosis Society, de l'ISME, de l'AFEM, d'ECOTOXICOMIC et du GIS Cyanobactéries.

Réorientation possible du sujet si échecs:

Le projet repose sur des méthodes éprouvées et optimisées au laboratoire. Les trois volets expérimentaux complémentaires, chacun pouvant donner lieu à une ou plusieurs publications, ainsi que l'approche associant métabarcoding, métabolomique et imagerie minimisent le risque d'un échec total. L'équipe a réalisé des expérimentations similaires avec des efflorescences induites en laboratoire (stage M2), ainsi que dans les systèmes expérimentaux de l'Ecotron Planaqua. Selon les contraintes (par exemple mortalité massive durant les expérimentations), il sera possible de refaire les incubations ou de faire évoluer le sujet, par exemple en approfondissant un aspect particulier sur les expériences qui auront bien fonctionné en ayant recours à des approches complémentaires pertinentes mais initialement non prévues (métatranscriptomique...).

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

Le laboratoire est équipé pour les approches proposées (culture de cyanobactéries, expérimentation animale, biologie moléculaire, imageries, métabolomique, expertise technique) et bénéficie d'un réseau de collaborations étendu.

Semestre S1 ' Bibliographie, lancement des cultures pour les microcosmes

S2 'Expérimentations en microcosmes, analyses des échantillons par séquençage, analyses métabolomiques, et histologie

S3 ' analyse des données de microcosmes, rédaction de l'article 1 et lancement des cultures en vue des expérimentations en mésocosmes

S4 'Expérimentations en mésocosmes et encagement, analyses des échantillons (séquençage, analyses métabolomiques, histologie)

S5 - analyse des données de mésocosmes et d'encagements

S6 ' rédaction des articles 2 et 3, ainsi que du manuscrit de thèse, préparation de la soutenance

Profil du candidat recherché:

Le/la candidat(e) possédera de solides connaissances en écologie microbienne, allant si possible de la production des données (extractions d'ADN, PCR, séquençage, analyse chimique) à leur analyse à l'aide d'outils informatiques (logiciels d'analyse de données type QIIME, R'). Des connaissances concernant les microbiotes et les cyanobactéries seront appréciées, de même qu'une expérience en expérimentation animale. Il/elle devra être capable de faire preuve d'autonomie dans la gestion de son projet, d'esprit d'initiative, et de rigueur scientifique. Des qualités de communication sont attendues. Enfin, un bon niveau d'anglais (lu, écrit, parlé) est indispensable.