

## Sujet de stage M2 2020 – IFREMER LER-BO Concarneau

### Etude de la variabilité inter- et intraspécifique de l'activité ichtyotoxique au sein des dinoflagellés du genre *Karlodinium*

Des phénomènes d'efflorescences de microalgues toxiques se produisent dans le monde entier, impactant l'écologie des écosystèmes côtiers et les activités socio-économiques associées (Hallegraeff, 1993; Landsberg, 2002). Parmi ces phénomènes, **les efflorescences ichtyotoxiques peuvent causer des mortalités d'organismes marins**, mais ne sont généralement pas associées à des intoxications alimentaires humaines via la consommation de coquillages ou poissons contaminés. Pour cette raison, **cette problématique n'a encore reçu que très peu d'attention à l'échelle mondiale ; pourtant ces efflorescences ichtyotoxiques causent des pertes économiques considérables dans les secteurs aquacoles et halieutiques**. Par exemple, en 2016, un phénomène ichtyotoxique a causé 800M\$ de pertes au Chili (Hallegraeff et al., 2017). En France, des épisodes de mortalités, des défauts de recrutements ou arrêts de croissance de poissons et mollusques ont été observés suite à des efflorescences ichtyotoxiques (Chauvaud et al., 1998; Paulmier et al., 1995). **Récemment, Nézan et al. (2014) ont mis en évidence la présence sur les côtes françaises de dinoflagellés du genre *Karlodinium* qui pourraient présenter un risque pour la ressource marine**, dont deux espèces reconnues ichtyotoxiques, *K. veneficum* et *K. armiger*. *K. veneficum* est une espèce ubiquiste, responsable de mortalités partout dans le monde, y compris en Méditerranée espagnole (Place et al., 2012) et *K. armiger* a provoqué des mortalités de poissons en Corse et Méditerranée espagnole (Garces, 1999; Paulmier et al., 1995). Enfin, une espèce décrite récemment, *K. gentienii*, dont le potentiel ichtyotoxique est encore méconnu, est régulièrement détectée sur les côtes françaises (Nézan et al., 2014).

L'activité ichtyotoxique est le plus souvent caractérisée à partir des propriétés lytiques et cytotoxiques des microalgues, **mesurée par des bioessais cellulaires**, plus éthiques et simples et à mettre en œuvre que des tests *in vivo*. **Les bioessais utilisés ciblent des érythrocytes (test hémolytique) et cellules branchiales (fish gill assay) de poissons** (Dorantes-Aranda et al., 2011; Eschbach et al., 2001). Ce dernier est particulièrement pertinent car les efflorescences ichtyotoxiques provoquent typiquement l'altération des branchies chez les poissons (e.g. Deeds et al., 2002). **Les cellules de mollusques sont rarement ciblées, pourtant ces organismes représentent une ressource économique importante affectée par les phénomènes ichtyotoxiques**. L'huître en particulier est un modèle pertinent, ubiquiste et d'importance économique en France et dans le monde. Les cellules branchiales, les hémocytes et les gamètes d'huîtres sont des cellules cibles intéressantes qui se montrent sensibles aux microalgues toxiques ou des contaminants chimiques suite à des expositions *in vitro* et *in vivo* (Gaume et al., 2012; Hégaret et al., 2011; Lassudrie et al., 2016, 2015, 2014; Le Goïc et al., 2014, 2013). Les utiliser dans le cadre de bioessais représenterait une réalité écologique, puisque *in vivo* ces cellules peuvent être exposées aux molécules produites par les microalgues (dans le milieu ou via le système hémolympatique). Il a aussi été montré que l'exposition de gamètes d'huîtres à d'autres dinoflagellés diminue le taux de fécondation (Basti et al., 2013; Castrec et al., 2019). Ces effets reflètent la toxicité des microalgues sur la physiologie (reproduction et défense) de ces espèces et les potentiels impacts écologiques de ces efflorescences.

Ce stage propose d'étudier l'activité ichtyotoxique de différentes espèces et souches de *Karlodinium* spp. en culture, isolées en France, à différentes phases de croissance. Des bioessais seront utilisés pour mesurer cette activité, sur des cellules de poissons (cellules sanguines, branchiales) et éventuellement de mollusques (hémocytes, gamètes). Le potentiel ichtyotoxique des souches françaises sera déterminé par comparaison avec l'activité de souches de *Karlodinium* spp. d'autres pays. Ces analyses permettront d'étudier la variabilité inter- et intraspécifique de l'activité ichtyotoxique au sein du genre, pour une meilleure compréhension des phénomènes ichtyotoxiques liés à *Karlodinium* spp. en France et à travers le monde.

Ce stage se rattache au projet Let it Bi, qui comprend également l'analyse génétique et la recherche de toxines chez les souches étudiées, afin de déterminer le lien entre toxicité biologique, chimiodiversité et diversité génétique au sein du genre *Karlodinium*.

Des déplacements réguliers au LEMAR (Plouzané) sont à prévoir, et l'étudiant.e aura l'opportunité d'interagir avec les autres équipes impliquées dans le projet (MNHN Concarneau, Ifremer PHYC Nantes).

**Profil candidat :** M2 recherche en biologie marine / dernière année école d'ingénieur

**Laboratoire d'accueil :**

IFREMER, laboratoire Environnement Ressources de Bretagne Occidentale (LER-BO)  
Station de Biologie marine de Concarneau  
Place de la Croix  
29900 Concarneau

**Encadrement :** encadrante principale Malwenn Lassudrie (IFREMER LER-BO), co-encadrante Hélène Hégaret (LEMAR)

**Activités envisagées:**

- culture de microalgues
- cultures de cellules animales (branchies de poissons) en conditions stériles
- tests écotoxicologiques : bioessais cellulaires (analyse par spectrophotométrie et cytométrie en flux)

**Compétences et qualités recherchées :**

- expérience du travail au laboratoire
- maîtrise des analyses statistiques multifactorielles
- connaissances en écotoxicologie et en physiologie des microalgues
- maîtrise de l'anglais (lecture et écriture)
- qualités rédactionnelles
- grande rigueur, soin, organisation, appréciant le travail au laboratoire.

**Projet de rattachement:** projet EC2CO « Let It Bi »: Microalgues ichtyotoxiques du littoral français : quels Liens Entre Toxicité Biologique, chimiodiversité et diversité génétique au sein du genre *Karlodinium* ? »

Merci d'envoyer votre candidature (CV, lettre de motivation et dernier bulletin de notes) **avant le 1er novembre 2019** à Malwenn Lassudrie et Hélène Hégaret : [malwenn.lassudrie@ifremer.fr](mailto:malwenn.lassudrie@ifremer.fr); [helene.hegaret@univ-brest.fr](mailto:helene.hegaret@univ-brest.fr)

## Bibliographie

- Basti, L., Nagai, K., Tanaka, Y., Segawa, S., 2013. Sensitivity of gametes, fertilization, and embryo development of the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*, to the harmful dinoflagellate, *Heterocapsa circularisquama*. *Mar. Biol.* 160, 211–219. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-2079-2>
- Castrec, J., Hégaret, H., Alunno-Bruscia, M., Picard, M., Soudant, P., Petton, B., Boulais, M., Suquet, M., Quéau, I., Ratiskol, D., Foulon, V., Le Goïc, N., Fabioux, C., 2019. The dinoflagellate *Alexandrium minutum* affects development of the oyster *Crassostrea gigas*, through parental or direct exposure. *Environ. Pollut.* 246, 827–836. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.084>
- Chauvaud, L., Thouzeau, G., Paulet, Y.M., 1998. Effects of environmental factors on the daily growth rate of *Pecten maximus* juveniles in the Bay of Brest (France). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 227, 83–111. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(97\)00263-3](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00263-3)
- Deeds, J.R., Terlizzi, D.E., Adolf, J.E., Stoecker, D.K., Place, A.R., 2002. Toxic activity from cultures of *Karlodinium micrum* (= *Gyrodinium galatheanum*) (Dinophyceae) - A dinoflagellate associated with fish mortalities in an estuarine aquaculture facility. *Harmful Algae* 1, 169–189. [https://doi.org/10.1016/S1568-9883\(02\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S1568-9883(02)00027-6)
- Dorantes-Aranda, J.J., Waite, T.D., Godrant, A., Rose, A.L., Tovar, C.D., Woods, G.M., Hallegraeff, G.M., 2011. Novel application of a fish gill cell line assay to assess ichthyotoxicity of harmful marine microalgae. *Harmful Algae* 10, 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.01.002>
- Eschbach, E., Scharsack, J.P., John, U., Medlin, L.K., 2001. Improved Erythrocyte Lysis Assay in Microtitre Plates for Sensitive Detection and Efficient Measurement of Haemolytic Compounds from Ichthyotoxic Algae. *J. Appl. Toxicol.* 21, 513–519. <https://doi.org/10.1002/jat.797>
- Garces, E., 1999. In situ growth rate and distribution of the ichthyotoxic dinoflagellate *Gyrodinium corsicum* Paulmier in an estuarine embayment (Alfacs Bay, NW Mediterranean Sea). *J. Plankton Res.* 21, 1977–1991. <https://doi.org/10.1093/plankt/21.10.1977>
- Gaume, B., Bourgougnon, N., Auzoux-Bordenave, S., Roig, B., Le Bot, B., Bedoux, G., 2012. In vitro effects of triclosan and methyl-triclosan on the marine gastropod *Haliotis tuberculata*. *Comp. Biochem. Physiol. - C Toxicol. Pharmacol.* 156, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.04.006>
- Hallegraeff, G., Dorantes-Aranda, J.J., Mardones, J., Seger, A., 2017. Review of Progress in our Understanding of Fish-Killing Microalgae: Implications for Management and Mitigation, in: Proença, L.A. O., Hallegraeff, G. (Eds.), *Marine and Fresh-Water Harmful Algae. Proceedings of the 17th International Conference on Harmful Algae*. International Society for the Study of Harmful Algae. pp. 148–153.
- Hallegraeff, G.M., 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* 32, 79–99. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-32-2-79.1>
- Hégaret, H., da Silva, P.M., Wikfors, G.H., Haberkorn, H., Shumway, S.E., Soudant, P., 2011. In vitro interactions between several species of harmful algae and haemocytes of bivalve molluscs. *Cell Biol. Toxicol.* 27, 249–266. <https://doi.org/10.1007/s10565-011-9186-6>
- Landsberg, J.H., 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish. Sci.* 10, 113–390.
- Lassudrie, M., Soudant, P., Henry, N., Medhioub, W., da Silva, P.M., Donval, A., Bunel, M., Le Goïc, N., Lambert, C., de Montaudouin, X., Fabioux, C., Hégaret, H., 2014. Physiological responses of Manila clams *Venerupis* (= *Ruditapes*) *philippinarum* with varying parasite *Perkinsus olseni* burden to toxic algal *Alexandrium ostenfeldii* exposure. *Aquat. Toxicol.* 154, 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquat.2014.05.002>
- Lassudrie, M., Soudant, P., Nicolas, J.L., Miner, P., Le Grand, J., Lambert, C., Le Goïc, N., Hégaret, H., Fabioux, C., 2016. Exposure to the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* modulates juvenile oyster *Crassostrea gigas* hemocyte variables subjected to different biotic conditions. *Fish Shellfish Immunol.* 51, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.02.017>
- Lassudrie, M., Wikfors, G.H., Sunila, I., Alix, J.H., Dixon, M.S., Combot, D., Soudant, P., Fabioux, C., Hégaret, H., 2015. Physiological and pathological changes in the eastern oyster *Crassostrea virginica* infested with the trematode *Bucephalus* sp. and exposed to the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *J. Invertebr. Pathol.* 126, 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.01.011>
- Le Goïc, N., Hégaret, H., Boulais, M., Béguel, J.-P., Lambert, C., Fabioux, C., Soudant, P., 2014. Flow cytometric assessment of morphology, viability, and production of reactive oxygen species of *Crassostrea gigas* oocytes. Application to toxic dinoflagellate (*Alexandrium minutum*) exposure. *Cytom. Part A* 85, 1049–1056. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22577>
- Le Goïc, N., Hégaret, H., Fabioux, C., Miner, P., Suquet, M., Lambert, C., Soudant, P., 2013. Impact of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* on Pacific oyster reproductive output: application of flow cytometry assays on spermatozoa. *Aquat. Living Resources* 26, 221–228.
- Nézan, E., Siano, R., Boulben, S., Six, C., Bilien, G., Chèze, K., Duval, A., Le Panse, S., Quéré, J., Chomérat, N., 2014. Genetic diversity of the harmful family Kareniaceae (Gymnodiniales, Dinophyceae) in France, with the description of *Karlodinium gentienii* sp. nov.: A new potentially toxic dinoflagellate. *Harmful Algae* 40, 75–91. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.10.006>
- Paulmier, G., Berland, B., Billard, C., Nezan, E., 1995. *Gyrodinium corsicum* nov. sp. (Gymnodiniales, Dinophyceae), organisme responsable d'une 'eau verte' dans l'étang marin de Diana (Corse), en avril 1994. *Cryptogam. Algol.* 16, 77–94.
- Place, A.R., Bowers, H.A., Bachvaroff, T.R., Adolf, J.E., Deeds, J.R., Sheng, J., 2012. *Karlodinium veneficum*-The little dinoflagellate with a big bite. *Harmful Algae* 14, 179–195. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.021>