

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : UMR 7245 MCAM

Adresse : 12 rue Buffon

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pr. Philippe Grellier

Responsable de l'encadrement : Pr. Sébastien Duperron

Téléphone : 01 40 79 31 26

E-mail : sebastien.duperron@mnhn.fr

Co-encadrant éventuel : Dr. Benjamin Marie

Perspectives de poursuite de thèse :

oui

non

avec une bourse spécifique

oui

non

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Etude du microbiote associé au poisson médaka lors d'expositions à des cyanotoxines

La contamination des milieux aquatiques par les efflorescences de cyanobactéries provoque des mortalités importantes de la faune autochtone. Si les effets toxicologique (*sensus stricto*) de ces micro-organismes et de leurs toxines sont connus sur les organes et les tissus de vertébrés, notamment téléostéens, on ignore leur impact sur le microbiote associé. Des travaux menés ces dernières années ont montré que le microbiote, localisé à l'interface entre un organisme et le milieu extérieur, peut jouer un rôle important dans la physiologie de l'hôte, mais aussi dans de nombreux traits chez les Vertébrés, parmi lesquels la résistance aux pathogènes (Archie et Theis, 2011, McFall Ngai 2013).

Le présent projet propose d'étudier l'effet de l'exposition à des toxines de cyanobactéries, les microcystines, sur le microbiote bactérien associé à la peau, aux branchies et au tube digestif d'un téléostéen modèle, le médaka. A ce jour, aucune étude n'a été réalisée sur le compartiment microbien. On ignore s'il est altéré, et s'il pourrait jouer un rôle chez le poisson lors de tels événements d'expositions aux cyanotoxines. L'objectif est donc ici de tester l'hypothèse d'une modification du microbiote lors d'expositions à différents métabolites produits par les cyanobactéries.

Dans un premier temps, des expériences d'exposition en conditions contrôlées seront réalisées en laboratoire, dans l'animalerie médaka, selon un plan expérimental comprenant 3 traitements : 1/ eau & solvant (témoin) ; 2/ mélange de cyanotoxines issu de

cultures ; 3/ une cyanotoxine pure. Des individus de même sexe et stade de développement seront exposés pendant 28 jours dans 3 bacs (réplicats) pour chacun des 3 traitements. Chaque individu sera ensuite disséqué et l'ADN sera extrait de chaque tissu (peau, branchie, tube digestif). En parallèle l'ADN sera extrait de l'eau issue des bacs de chaque traitement, ainsi que de la nourriture utilisée pour les poissons (contrôles).

La composition des communautés bactériennes sera étudiée par le séquençage Illumina MiSeq d'une zone hypervariable du gène codant l'ARNr 16S bactérien à partir des extraits d'ADN. Les séquences obtenues permettront d'identifier la diversité des OTUs bactériennes présentes (utilisation du logiciel QIIME (Caporaso et al. 2010)), et la composition des communautés associées aux différents tissus et traitements sera comparée à l'aide d'analyses multivariées (PCA, NMDS réalisées à l'aide du logiciel R). Une analyse quantitative de la colonisation bactérienne des différents tissus échantillonnés sera réalisée par hybridation *in situ* (FISH) sur coupes histologique, et des paramètres physiologiques seront examinées chez les animaux : index hépato-somatique, dommages cellulaires hépatiques (histopathologie réalisé en collaboration avec l'ENVA), poids, indice gonado-somatique... Les facteurs testés seront le type d'exposition, le type de tissu et la variabilité entre les réplicats.

Cette étude constituera un prérequis indispensable au développement de ce sujet encore vierge. La caractérisation du microbiote de téléostéens n'en est en effet qu'à ses débuts et dévoile déjà une large diversité microbienne inattendue (Llewellyn et al. 2015). Les interactions entre hôte, microbiote et environnement sont peu explorées (Lokesh et al. 2016), encore moins dans le cadre de stress écotoxicologiques, et pourraient s'avérer informative de processus biologiques méconnus. Ces premiers résultats orienteront la suite des travaux afin de tester notamment d'autres paramètres (durée d'exposition, température, stade de développement...) caractérisant la dynamique de la relation entre le microbiome et l'hôte en condition de stress.

Références

- Archie EA, Theis KR. 2011. Animal behaviour meets microbial ecology. *Animal Behaviour* 82(3), 425-436.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* 7: 335-336
- Llewellyn MS, Boutin S, Hoseinifar SH, Derome N. 2015. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. *Roles and mechanisms of parasitism in aquatic microbial communities*, 109
- Lokesh J, Kiron V. 2016. Transition from freshwater to seawater reshapes the skin-associated microbiota of Atlantic salmon. *Scientific Report* 6: 19707
- McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC, et al. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(9): 3229-3236