

Projet de thèse pour 2015-2018

- **Titre du sujet de thèse proposé : Impact des efflorescences de dinoflagellés toxiques sur la reproduction des huîtres d'intérêt économique en Rade de Brest**

- **Directeur de thèse** : Philippe Soudant (CNRS/LEMAR)

- **Responsable scientifique** : Caroline Fabioux (UBO/LEMAR)

- **Chercheurs impliqués** : Hélène Hégaret (CNRS/LEMAR), Marc Suquet (IFREMER/ LEMAR), Stéphane Pouvreau (IFREMER/ LEMAR), Arnaud Huvet (IFREMER/ LEMAR)

- **Laboratoire/unité, département d'accueil** : LEMAR/IUEM/UBO équipes 1 et 2

- **Ecole doctorale de rattachement** : Ecole Doctorale des Sciences de la Mer _UBO

Contexte scientifique de la thèse :

Les efflorescences de micro-algues toxiques sont de plus en plus fréquentes et intenses et leur étendue géographique ne cesse d'augmenter (Anderson, 2014). En Rade de Brest, les efflorescences à *Alexandrium minutum*, dinoflagellé producteur de toxines paralysantes (PST), sont récurrentes depuis l'été 2012 alors qu'elles n'avaient jamais été enregistrées avant cette date. En juillet 2012, la concentration d'*A. minutum* a même atteint des taux records avec plus de 40 millions de cellules/L d'eau (Bulletin de surveillance REPHY, N° 2012- Semaine 29, Ifremer Concarneau), provoquant la fermeture de la vente des coquillages pendant plusieurs semaines, à cause de la forte concentration de toxines accumulées par ces organismes filtreurs. Si les efflorescences de micro-algues toxiques sont essentiellement connues et étudiées pour leur dangerosité sur la santé humaine liée à la consommation de coquillages ou poissons contaminés, elles impactent aussi directement les organismes marins. Ainsi, les micro-algues productrices de PST provoquent de nombreuses modifications physiologiques chez les bivalves marins, principaux organismes accumulateurs de toxines, telles qu'une modification du comportement valvaire et de l'activité de filtration (Tran et al., 2010, Haberkorn et al., 2011, Tran et al., 2015), la dégradation de nombreux tissus dont le tissu gonadique (Galimany et al. 2008, Hégaret et al. 2009, Haberkorn et al. 2010a), des réactions cellulaires comme l'infiltration ou la diapédèse hémocytaires (Hégaret et al. 2009, Haberkorn et al. 2010a, Lassudrie 2014) ou encore des modifications des réponses immunitaires (Hégaret et al. 2005a et b, 2007a et b, 2009). Ces efflorescences toxiques apparaissent de plus généralement pendant la période de reproduction de la plupart des bivalves et pourraient avoir des répercussions sur le développement des gamètes mais aussi sur la ponte, le développement larvaire ou encore le recrutement des juvéniles.

Plusieurs défauts de recrutement ont pu être observés en milieu naturel au moment d'efflorescences de micro-algues toxiques, et même s'il n'est, à l'heure actuel pas encore possible de prouver que ces efflorescences en sont à l'origine, cette hypothèse a été plusieurs fois proposée (Erard-Le-Denn et al., 1990 ; Summerson and Peterson, 1991). D'autres études montrent aussi un effet des micro-algues productrices de PST sur le développement embryonnaire et larvaire de plusieurs espèces de bivalves (Yan et al., 2003 ; Springer et al. 2002 ; Leverone et al. 2006 ; Padilla et al. 2006 ; Shumway et al. 2006). Par exemple, Yan et al. (2001) ont observé que la micro-algue productrice de PSTs, *A. tamarense*, diminuait significativement le taux d'éclosion des œufs fertilisés ainsi que la survie des larves du pétoncle, *Chlamys farreri*, lors d'expositions *in vitro*. Basti et al., (2013) ont montré, chez l'huître perlière *Pinctada fucata*, une réduction significative de la mobilité et de la vitesse des spermatozoïdes, de la viabilité des œufs, de la fécondité et du taux de développement des embryons exposés *in vitro* au dinoflagellé *Heterocapsa circularisquama*. Des études menées récemment au laboratoire LEMAR *gigas* mettent en évidence qu'une exposition des gamètes de l'huître creuse *Crassostrea gigas* à *A. minutum* provoque une réduction de la mobilité et du contenu en ATP ainsi qu'une modification du contenu en ADN des spermatozoïdes (Haberkorn et

al, 2010b, Le Goïc et al., 2013) et une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les ovocytes (Le Goïc et al., 2014). Ainsi, les efflorescences d'*A. minutum* observées ces trois dernières années en rade de Brest pourraient avoir des répercussions sur la reproduction de l'huître *C. gigas*, une espèce de toute première importance pour l'économie Bretonne.

Dans ce contexte, la thèse aura pour objectif de déterminer l'impact des efflorescences d'*A. minutum* toxique sur chacune des étapes de la reproduction de l'huître creuse *C. gigas*, en laboratoire (axe 1) mais aussi sur le terrain lors des efflorescences printanières d'*A. minutum* (axe 2).

Axe 1 : Des expérimentations d'exposition à *A. minutum* seront réalisées *in labo* sur des huîtres adultes mâles et femelles en gamétogenèse et sur chaque stade de développement (gamètes, embryons et larves) en s'appuyant sur l'expertise du laboratoire dans la reproduction *in vitro* de *C. gigas* et de la culture des micro-algues toxiques. Cette partie expérimentale permettra :

- de mesurer l'accumulation des toxines dans le tissu gonadique, les gamètes et les stades de développement.
- de décrypter finement l'effet de l'algue toxique sur la cinétique de gamétogenèse et l'investissement reproducteur, sur la qualité des gamètes et sur le développement embryonnaire grâce à des outils développés précédemment par notre équipe pour l'étude de la reproduction des bivalves marins (histologie, analyse d'image, cytométrie en flux, protéomique, transcriptomique) (Fabioux et al., 2005 ; Dheilly et al., 2012 ; Corporeau et al., 2012 ; Le Goïc et al., 2013 et 2014 ; Sousa et al., 2014 ; Boulais et al., 2015).

Axe 2 : Les données du réseau VELYGER (<http://wwz.ifremer.fr/velyger>) mettent en évidence des retards dans la date de ponte ou un recrutement moins abondant qu'attendu pour *C. gigas* depuis quelques années et l'effet d'efflorescences toxiques d'*A. minutum* dans la survenu de ces phénomènes sera étudiée *in situ*. Des huîtres seront échantillonnées régulièrement en rade de Brest lors de la saison de reproduction. La gamétogenèse et la qualité des gamètes seront analysées avec les mêmes outils que ceux utilisés pour les expérimentations en laboratoire. Ces données seront corrélées aux données physico-chimiques, et de suivi des espèces phytoplanctoniques toxiques disponibles grâce aux divers réseaux de surveillance qui instrumentent la zone rade de Brest, notamment, l'observatoire marin de l'IUEM (Observatoire des Sciences de l'Univers de l'Institut National des Sciences de l'Univers et de l'Environnement) et le réseau REPHY (Ifremer). En parallèle, l'existence potentielle d'un lien entre des défauts de ponte et/ou de mauvais recrutements de *C. gigas* et les efflorescences d'*A. minutum* sera analysée i) grâce aux séries temporelles acquises ces sept dernières années en rade de Brest dans les réseaux VELYGER (Ifremer, reproduction de *C. gigas*) et REPHY (Ifremer, surveillance du phytoplancton toxique) et ii) sur ces mêmes suivis réalisés dans les 3 années à venir et sur le suivi de l'activité valvaire d'huîtres équipées de valvomètres fournissant des informations à la fois sur une exposition à *A. minutum* et sur l'activité de ponte des huîtres femelles (collab. Laboratoire EPOC, Arcachon).

Axe 3 : En parallèle de l'étude sur *C. gigas* (axes 1 et 2), le dernier axe de la thèse sera une étude préliminaire de l'effet d'*A. minutum* sur la reproduction l'huître plate *Ostrea edulis*. Cette espèce, endémique de nos côtes est, elle aussi, exposée aux efflorescences d'*A. minutum* en rade de Brest et si sa reproduction est moins maîtrisée que celle de *C. gigas*, *O. edulis* est un modèle intéressant car elle a la particularité d'incuber ses larves avant de les libérer dans l'eau de mer. L'exposition de ses larves aux PST est donc différente de celle de *C. gigas*. Des expositions à *A. minutum* d'huîtres plates en gamétogenèse et incubantes seront effectuées, *in labo*, afin de mesurer des indicateurs de qualité simple de la reproduction tels que l'investissement reproducteur et la survie larvaire et ses résultats seront comparés à ceux obtenus sur *C. gigas*.

Positionnement du sujet et du laboratoire:

Le LEMAR a entrepris depuis plusieurs années d'évaluer l'impact des algues toxiques sur la biologie des bivalves et les conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes. Ces travaux ont déjà été finalisés par plus d'une vingtaine de publications récentes. Cette activité de recherche au sein du LEMAR concerne à ce jour plusieurs chercheurs, post-doctorants, doctorants et techniciens. Notre équipe a pour but, à travers plusieurs projets et collaborations nationaux et internationaux de i) mieux caractériser l'effet du phytoplancton toxique sur les mollusques filtreurs aux échelles individuelle et populationnelle, et ii) de mieux comprendre et caractériser les réponses physiologiques des bivalves, permettant de mieux comprendre les accumulations et dépurations de toxines, suite à des expositions aux efflorescences de phytoplancton toxique.

Ce sujet de thèse, positionné en rade de Brest, participera aux axes transverses « écologie et physiologie des organismes photosynthétiques » et « Rade Brest » du LEMAR. Dans un contexte plus large, il s'intègre parfaitement dans le cadre de la Zone Atelier Brest Iroise (ZABri) et dans l'axe 6 du Labex « Mer Evolution des habitats marins et adaptation des populations ».

Le fonctionnement de la thèse s'appuiera sur le projet ANR ACCUTOX financé par l'ANR CESA (2013-2017) et de nouveaux projets soumis dans le courant de l'année.

Collaborations internationales :

- Aswani Volety _ University of North Carolina Wilmington, USA
- Sandra Shmway _ University of Connecticut Department of Marine Sciences, USA
- Monica Bricelj _ Institute of Marine and Coastal Sciences, The state University of New Jersey, USA
- Leila Basti _ National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, Japan

Mots clés:

Huîtres, reproduction, micro-algues toxiques, rade de Brest