

Sujet de thèse : Effets moléculaires et physiologiques de l'exposition à des pesticides chez l'huître creuse

Directeur de thèse : Thierry Burgeot (Ifremer, unité Biogéochimie et Ecotoxicologie)

Responsables scientifiques : Rossana Sussarellu (Ifremer, unité Biogéochimie et Ecotoxicologie), Guillaume Rivière (UMR BOREA, Université de Caen Normandie)

Laboratoire/unité, département d'accueil : Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie, Ifremer Nantes

Projet de rattachement : PESTO (ANR)

Cofinancement : Ifremer (financement 50%)

Résumé

Comprendre les effets de l'exposition à de faibles concentrations de polluants chimiques sur le cycle de vie des organismes, ainsi que les effets transgénérationnels sont l'un des principaux enjeux de l'écotoxicologie. Le but principal de cette thèse est d'étudier les effets d'un mélange de pesticides sur le développement des larves d'huître, leur cycle biologique (recrutement larvaire, croissance, reproduction) et leur descendance. Deux questions principales seront abordées: 1) Quels sont les effets d'une exposition précoce à un mélange de polluants sur le cycle de vie d'un organisme? 2) Ces effets sont-ils persistants chez la progéniture des animaux exposés? Une adaptation peut-elle être observée ? Plusieurs approches seront développées au niveau moléculaire (transcriptomique et épigénétique) et individuel (recrutement larvaire, croissance, reproduction).

Mots clés : huître, pesticides, mélanges, transcriptomique, épigénétique

Profil de candidature souhaitée:

Nous recherchons un(e) doctorant(e) avec un intérêt prononcé pour l'écotoxicologie et la biologie marine, cette thèse sera partie intégrante du projet ANR PESTO visant à étudier les effets des pesticides sur le développement de l'huître creuse sous des aspects moléculaires et physiologiques.

Le poste requiert une bonne formation multidisciplinaire en écotoxicologie, biologie marine, et en biologie expérimentale ; des compétences en biologie moléculaire et des bases de bioinformatique (en vue d'analyses transcriptomiques et épigénétiques) seront particulièrement appréciées. Le/la candidat(e) travaillera au Centre Ifremer de Nantes et à la Station Ifremer de Bouin. Un co-encadrement avec le Dr. Guillaume Rivière (UMR BOREA, Univ Caen) sera prévu sur les aspects épigénétiques.

Un engagement important de l'étudiant(e) est attendu pour la conduite des expérimentations en écloserie expérimentale et en laboratoire. La procédure d'embauche sera soumise aux conditions d'emploi de l'Ifremer.

Demandes d'informations complémentaires :

Thierry Burgeot (Thierry.Burgeot@ifremer.fr)

Rossana Sussarellu (rossana.sussarellu@ifremer.fr)

Site web de l'unité Biogéochimie et Ecotoxicologie

<https://wwz.ifremer.fr/pollution/>

Sujet de thèse détaillé

- **Contexte Scientifique :**

L'un des principaux enjeux de l'écotoxicologie aujourd'hui est de comprendre les effets sur les organismes de l'exposition à des faibles concentrations de polluants sur les stades de vie les plus vulnérables, leurs histoire de vie, ainsi que leurs effets multi et transgénérationnels. Le développement embryonnaire est un stade sensible qui peut être perturbé par des facteurs environnementaux tels que les xénobiotiques, la nutrition et les changements physico-chimiques, affectant l'histoire de vie et la survie. Des travaux récents mettent en évidence le rôle des altérations épigénétiques dans la médiation de la réponse à l'exposition aux substances toxiques présentes dans l'environnement¹. Les mécanismes épigénétiques sont fondamentaux au cours du développement de l'embryon car ils coordonnent l'expression précise des gènes clés dans l'espace et le temps². La dérégulation des épigénomes embryonnaires par les polluants a des conséquences potentielles sur le développement des individus, sur leur histoire de vie ou au niveau transgénérationnel³. Les milieux aquatiques sont les réceptacles ultimes de nombreux produits chimiques d'origine anthropique, auxquels les espèces à fécondation externe exposent les stades vulnérables, tels que les gamètes, les embryons et les larves. La plupart des données disponibles sur les modifications épigénétiques causées par les polluants proviennent des modèles mammifères et plus récemment des vertébrés aquatiques⁴, mais les études en dehors de ces phyla sont rares⁵, bien que les espèces non vertébrées constituent la majorité de la diversité des écosystèmes aquatiques. En outre, la plupart des études se concentrent souvent sur les effets d'un seul contaminant ne reproduisant pas les conditions environnementales dans lesquelles des mélanges de contaminants sont retrouvés. Les huîtres *Crassostrea gigas* sont considérées comme des bioindicateurs de la qualité de l'eau ainsi qu'une espèce modèle pour les études d'écotoxicologie marine en raison de leurs caractéristiques écologiques (benthique, sessile, fécondation externe). Des études récentes sur ce modèle démontrent les effets sur la descendance de l'exposition parentale à différentes classes de polluants^{6,7}. Dans le cas d'une exposition au pesticide diuron, des variations globales⁸ et ciblées⁹ de méthylation de l'ADN ont été mesurées chez la progéniture. Alors que l'impact des polluants sur l'épigénome de la descendance suggère un effet multigénérationnel, des effets directs sur la méthylation de l'ADN des gamètes ont également été observés⁸. Plus récemment, l'exposition à des polluants a été liée à des changements de méthylation de l'ADN pendant le développement précoce de l'huître¹⁰, ouvrant une voie intéressante pour explorer la relation entre les perturbations épigénétiques des polluants chimiques, les effets sur le cycle de vie ainsi que sur la descendance.

- **Objectifs de la thèse :**

Le principal objectif de cette thèse est d'étudier chez l'huître les effets d'un mélange de pesticides à des concentrations réalistes sur le développement larvaire, le cycle de vie (recrutement larvaire, croissance, reproduction) et les générations suivantes. Deux questions principales seront abordées:

- 1) Quels sont les effets d'une exposition précoce à un mélange de polluants sur le cycle de vie d'un organisme (recrutement larvaire, croissance, reproduction, transcription et épigénétique)?
- 2) Ces effets persistent-ils chez les progénitures des animaux exposés? Peut-on observer une adaptation chez les descendants des organismes exposés s'ils sont à leur tour exposés au même stress?

Pour répondre à ces questions, une approche combinée à l'échelle moléculaire (transcriptomique et épigénétique) et à l'échelle de l'organisme (recrutement larvaire, croissance, reproduction) sera développée.

- **Originalité et le caractère innovant des recherches :**

La nouveauté de cette étude réside dans le plan expérimental proposé qui (i) couvrira le cycle de vie complet de l'huître à partir du développement embryonnaire, (ii) étudiera les effets multigénérationnels jusqu'aux deux générations suivantes (iii) en utilisant l'exposition à un mélange de polluants reflétant au mieux l'environnement. Les molécules de pesticides composant le mélange et leurs concentrations seront sélectionnées en fonction des résultats d'études menées dans des zones de production conchylicole (étude en cours). Jusqu'à présent en écotoxicologie, les études multigénérationnelles sur les huîtres ont examiné les effets sur la progéniture des parents exposés à des polluants uniques, mais des études avec un plan expérimental plus long et considérant des mélanges de contaminants manquent toujours. Les études multi- et trans-générationnelles sur d'autres espèces modèles d'invertébrés marins prennent rarement en compte les effets épigénétiques, souvent en raison du manque de données génomiques; dans ce cadre la disponibilité du génome de l'huître donne un réel avantage. Cette thèse fournira de nouvelles connaissances pour expliquer la toxicité des pesticides à une échelle transgénérationnelle, donnant un aperçu des mécanismes moléculaires liés aux effets d'adaptation ou d'affaiblissement grâce à des approches combinées en transcriptomique et épigénétique.

- **Approches méthodologiques :**

La thèse sera organisée en deux volets :

1) Les premières étapes du développement embryonnaire seront ciblées pour l'exposition au mélange de pesticides car le développement embryo-larvaire est crucial pour le cycle de vie et la survie. Les embryons F0 seront exposés au mélange de pesticides au cours des 48 premières heures de développement ; des individus F0 témoins se développeront parallèlement dans l'eau de mer non contaminée. En effet, l'huître offre l'avantage de présenter une organogenèse presque complète dans ce laps de temps au cours duquel les embryons se développent à partir d'œufs fécondés jusqu'aux larves D, correspondant au premier stade coquillé. Ensuite, toutes les larves seront élevées dans de l'eau de mer non contaminée jusqu'au stade pediveligère afin d'étudier la croissance larvaire. L'étudiant participera au volet zootechnique et à l'acquisition des données physiologiques. Avant la métamorphose des études transcriptomiques (RNAseq) et de méthylation de l'ADN (MBseq) seront réalisées afin de rechercher des perturbations de cette étape cruciale lors de laquelle se produisent des changements majeurs dans la régulation des gènes. Les naissains produits (témoins et exposés) seront gardés en éclosion jusqu'à la taille appropriée pour être déployés sur le terrain, où les deux groupes subiront les mêmes fluctuations environnementales jusqu'à la maturité sexuelle (12-18 mois).

2) Impacts multigénérationnels et transgénérationnels: La F1 sera produite par fécondation des gamètes des géniteurs F0 et la moitié des embryons issus de F0 exposés seront à leur tour exposés au même mélange de pesticides et comparés aux non exposés. Le cycle de vie des F1 sera suivi jusqu'à maturité sexuelle en suivant les mêmes paramètres que pour la F0 y compris le RNAseq et MBseq. La F2 sera produite à partir de la F1 et les larves suivies pour les seuls paramètres physiologiques jusqu'à la métamorphose

- **Collaborations**

L'étude des aspects épigénétiques liés à l'exposition à des pesticides se fera en collaboration avec le Dr. Guillaume Rivière (Univ. Caen, UMR BOREA) qui sera co-encadrant scientifique de la thèse. Les expérimentations seront conduites à Plateforme Expérimentale Mollusques Marins Bouin (responsable Dr Christophe Stavrakakis).

• **Echéancier prévisionnel**

| | 2020 | | | 2021 | | | | | | | | | | | | 2022 | | | | | 2023 | | | | | | | | |
|---|------|---|---|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------|---|---|---|---|------|---|---|---|---|---|---|--|--|
| | O | N | D | J | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D | J | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D | | |
| T2 Effects on development and life history | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Broodstock maturation and F0 production | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Early embryo exposure and toxic endpoints | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Larval rearing | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Transcriptomic and epigenetic sequencing and analysis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Metamorphosis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Spat and Juvenile growth | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Adults gametogenesis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T3 Multigenerational effects | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| F1 production | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Early embryo exposure and toxic endpoints | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Larval rearing | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Transcriptomic and epigenetic sequencing and analysis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Metamorphosis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Spat and Juvenile growth | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Adults gametogenesis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| F2 production | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Early embryo exposure and toxic endpoints | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Larval rearing | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Metamorphosis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Bibliographie

- Collotta, M., Bertazzi, P. a. & Bollati, V. Epigenetics and pesticides. *Toxicology* **307**, 35–41 (2013).
- Branciamore, S., Chen, Z.-X., Riggs, A. D. & Rodin, S. N. CpG island clusters and pro-epigenetic selection for CpGs in protein-coding exons of HOX and other transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 15485–90 (2010).
- Perera, F. & Herbstman, J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. *Reprod. Toxicol.* **31**, 363–373 (2011).
- Pierron, F., Baillon, L., Sow, M., Gotreau, S. & Gonzalez, P. Effect of low-dose cadmium exposure on DNA methylation in the endangered European eel. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 797–803 (2014).
- Suarez-Ulloa, V., Gonzalez-Romero, R. & Eirin-Lopez, J. M. Environmental epigenetics: A promising venue for developing next-generation pollution biomonitoring tools in marine invertebrates. *Mar. Pollut. Bull.* **98**, 5–13 (2015).
- Sussarellu, R. *et al.* Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201519019 (2016). doi:10.1073/pnas.1519019113
- Barranger, A. *et al.* Study of genetic damage in the japanese oyster induced by an environmentally-relevant exposure to diuron: evidence of vertical transmission of dna damage. *Aquat. Toxicol.* **146**, 93–104 (2014).
- Bachère, E. *et al.* Parental diuron-exposure alters offspring transcriptome and fitness in Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **142**, 51–58 (2017).
- Rondon, R. *et al.* Effects of a parental exposure to diuron on Pacific oyster spat methylome. *Environ. Epigenetics* **3**, 252 (2017).
- Sussarellu, R. *et al.* Copper induces expression and methylation changes of early development genes in *Crassostrea gigas* embryos. *Aquat. Toxicol.* **196**, submitted (2017).