

Diversité des protistes et stabilité des écosystèmes

Valérie David*

*UMR EPOC 5805 CNRS/Université Bordeaux 1, Station Marine d'Arcachon 2 rue du Professeur Jolyet
33120 Arcachon*

Dans le contexte actuel de changement global, beaucoup de travaux se focalisent sur la compréhension des mécanismes de réponses des écosystèmes aux pressions environnementales. L'érosion de la diversité à large échelle pose le problème des conséquences possibles sur la stabilité des écosystèmes, i.e. la survie de celui-ci et notamment de ses propriétés au cours du temps.

La relation entre diversité des organismes vivants qui composent un écosystème et la stabilité de celui-ci est très controversée du fait de la complexité de ces 2 concepts, impliquant chacun différents moyens de l'appréhender. La stabilité est représentée par différents paramètres (résilience, persistance, résistance) chacun représentant un aspect propre de la stabilité dans son ensemble (ex : la résilience désigne le temps de retour à l'équilibre après perturbation). La diversité d'un écosystème peut quant à elle être abordée d'un point de vue structurel (i.e. taxonomique) ou fonctionnel (i.e. la composition en espèces selon leur rôle fonctionnel). Divers travaux ont montré que la diversité fonctionnelle avait un impact aussi, voire plus important sur le fonctionnement des écosystèmes que la diversité des espèces elle-même. Cette relation diversité-stabilité est en outre souvent abordée d'un point de vue théorique ou expérimental, bien loin de la complexité réelle du vivant et de l'effet synergique des facteurs environnementaux

Le travail présenté ici vise à étudier la relation existante entre diversité et stabilité en s'intéressant au cas des micro-algues planctoniques dans divers écosystèmes littoraux. Des données « réelles » d'échantillonnage *in situ* seront utilisées pour appréhender la relation entre diversité (structurelle et fonctionnelle) et divers aspects de la stabilité d'un système, via notamment les indices ENA (Ecological Network Analysis) permettant l'analyse des propriétés émergentes d'un écosystème (redondance, connectance, recyclage). Un cas de résilience sera également abordé pour comprendre comment la diversité locale joue sur la capacité d'un écosystème à récupérer après une perturbation.

Le FlowCAM, un outil pour étudier les communautés de protistes planctoniques: diversité, abondance, croissance et taux de broutage

Laureen Beauguard^{1*}, Hélène Agogué¹, Jun Gong², Xiaoli Zhang², Christine Dupuy¹

1 UMR 7266, LIENSs, CNRS- Université de La Rochelle

2 Laboratory of Environmental Microbiology, Yantai, China

Dans un contexte de suivi des eaux côtières, il est essentiel d'étudier les compartiments planctoniques participant au réseau trophique, du pico-nano-microplancton jusqu'au mésozooplancton. Les méthodologies standards basées sur la microscopie et/ou sur des approches moléculaires sont souvent utilisées pour étudier les communautés planctoniques. Le FlowCAM est un outil permettant d'analyser rapidement un grand nombre de particules (2 μm à 2 mm) dans un flux liquide. Il regroupe ainsi les capacités d'un cytomètre en flux, d'un microscope et d'un détecteur de fluorescence (laser vert ou bleu). Il a été développé dans le but de caractériser les espèces planctoniques présentes dans les différents écosystèmes.

Notre étude reporte l'efficacité et les limites de détection du FlowCAM dans une étude de broutage des communautés planctoniques en juillet 2011 dans le Bassin de Marennes-Oléron. Les communautés planctoniques sont fractionnées par filtration sur une toile de nylon ou un filtre Nucleopore, < 200 μm , < 20 μm et < 2 μm et chaque fraction est incubée pendant 71h avec un prélèvement toutes les 12h. L'étude du picoplancton est effectuée en cytométrie en flux, le nanoplancton en microscopie à épifluorescence, les protistes au FlowCAM et en microscopie pour comparaison, et le microzooplancton métazoaires à la loupe binoculaire. Une bonne corrélation entre les comptages au microscope et ceux du FlowCAM a été trouvée pour les dinoflagellés et les diatomées (organismes de 15 à 100 μm). Les résultats pour les diatomées en chaine ainsi que les ciliés seront discutés. Les taux de croissance du microplancton ainsi calculés sont du même ordre de grandeur avec les données du microscope et du FlowCAM. La structure et le fonctionnement du réseau trophique planctonique peuvent être ainsi déterminés.

En conclusion, le suivi des communautés planctoniques avec le FlowCAM est pour de nombreuses applications : (i) suivi du microplancton, (ii) identification de bioindicateurs (e.g. algues toxiques), (iii) étude des variations à court terme d'un organisme spécifique. Les limites du FlowCAM seront discutées et des voies de recherches seront évoquées.

Taxonomie, morphologie et phylogénie des Ciliés Peritriches de plusieurs Environnements brésilien

Ignacio Da Silva-Neto^{1,2*} & R.J.P. Dias¹

¹Laboratoire de Protistologie, IB, Université Federale de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brésil

²Centro de Biologia Marinha (CEBIMAR) da Universidade de São Paulo, São Sebastião-SP.

La sous-classe Peritrichia Stein, 1859 comprend des ciliés amplement diversifiés avec plus de 800 espèces décrites. Cependant, les deux tiers des ces descriptions sont seulement basées sur des observations *in vivo*. Avec pour objectif de réaliser une étude morphologique et taxonomique détaillée, des ciliés péritriches ont été récoltés dans des environnements différents: dulcicoles, marins et édaphiques, dans le Sud-Est du Brésil. Neuf espèces de péritriches ont été caractérisées morphologiquement, six étant des épibiontes. Les espèces décrites appartiennent à cinq familles: Epistylididae: *Epistylis plicatilis*, *Epistylis* sp. nov. (épibionte de Plecoptera) et *Rhabdostyla* sp. nov. (épibionte de Oligochaeta); Lagenophryidae: *Lagenophrys* sp. nov. (épibionte de Ostracoda); Scyphididae: *Paravorticella* sp. nov. (épibionte de Polychaeta); Vorticellidae: *Pseudovorticella* sp. nov. (épibionte de Stramenopila), *Vorticella gracilis*, *Vorticella oceanica* (épibionte de Stramenopila); et Zoothamnidae: *Zoothamnium pelagicum*.

La description des nouveaux taxons présentés dans cette étude se rapporte à la discussion sur l'endémisme parmi les ciliés et la nécessité d'agrandir les échantillonnages en environnements néotropicaux pour une meilleure compréhension de la biogéographie et biodiversité de ces protistes. Ont été obtenues les séquences du gene 18S-rDNA pour des espèces de péritriches caractérisées morphologiquement. Pour la première fois, des séquences de péritriches, chez *Rhabdostyla* et de la famille des Lagenophryidae, ont été incluses et leur position systématique déterminée sur la basée des données moléculaires.

Les principaux résultats des analyses phylogénétiques ont été : ¹la confirmation de la monophylie de la sous-classe Peritrichia; ²l'existence de deux clades bien supportée pour Peritrichia; ³les représentants de la famille des Zoothamniidae ne sont pas un clade monophylétique; ⁴la famille des Epistylididae n'est pas un groupe monophylétique ; elle a quelques espèces que se regroupent entre les Operculariidae et les Vorticellidae; ⁵les représentants des familles des Astylozoidae, Opisthnectidae, Ophryidiidae et Vorticellidae forment un clade monophylétique.

Bien que certains clades formés soient en accord avec la classification basée sur la morphologie, certains résultats ont montré des propositions radicalement différentes de celles déduites par la morphologie de Peritrichia.

Soutien financier : CNPq-proc. 562366/2010-5 ; BIOTA-FAPERJ, proc. E-26/110022/2011 ; FAPESP.

Cycle saisonnier des réseaux trophiques planctoniques dans des marais anthropisés (Charente-Maritime, France) et ses altérations

Sébastien Tortajada^{1*}, Valérie David², Christine Dupuy¹

1 UMR 7266, LIENSs, CNRS- Université de La Rochelle

2 UMR 5805 EPOC - OASU, Université de Bordeaux

De par leur cycle de vie court, les communautés planctoniques intègrent rapidement les changements hydro-climatiques d'une génération à l'autre. Elles sont donc utilisées, depuis quelques années, comme indicateur de changements climatiques ou à plus courte échelle comme indicateur de perturbations aiguës (tempête, pollution...). Les changements produits par ces perturbations sur la structure des communautés planctoniques peuvent avoir des conséquences sur les relations trophiques entre espèces ou réseau trophique planctonique et par conséquent sur le fonctionnement même de l'écosystème. En effet, à chaque type de réseau trophique est associé des propriétés émergentes de l'écosystème. L'objectif de cette étude était, tout d'abord, de caractériser un cycle saisonnier des réseaux trophiques planctoniques dans les marais drainés de Charente-Maritime ainsi que les altérations possible de ce cycle, afin de définir si ces hydrosystèmes, contrôlés par l'homme qui les a drainés pour développer leurs activités, ont gardé leurs fonctions écologiques (épuration, fonction habitat/nourricerie). Cet objectif a été atteint grâce au comptage et à la détermination de l'ensemble des compartiments planctoniques, ainsi que par l'étude de la diversité fonctionnelle.

Un schéma 'classique' de la succession des réseaux trophiques planctoniques a pu être dégagé. La dominance du phytoplancton et des réseaux trophiques herbivores au printemps et multivores le reste de l'année semblerait cohérent avec les fonctions écologiques d'épuration et d'habitat/nourricerie caractéristiques des zones humides. Ce fonctionnement classique peut être altéré par différents mécanismes : le renouvellement d'eau ou le développement des macrophytes. D'une part, le faible renouvellement d'eau de certains marais peut conduire à l'emballement du système et provoquer des phénomènes d'eutrophisation, altérant les propriétés de l'écosystème. D'autre part, les macrophytes ayant la capacité d'utiliser les nutriments du sédiment sont plus compétitrices que le phytoplancton dans les milieux peu profond tel que les canaux de marais, et empêche le développement du phytoplancton. La dégradation importante de la biomasse macrophytique par les bactéries en période estivale peut ainsi engendrer de fortes hypoxies et conduire à une déstabilisation complète du réseau trophique planctonique.

Etude de la physiologie et de l'enkystement d'un dinoflagellé toxique, *Alexandrium minutum* Halim

Nicolas Henry*, Philippe Soudant, Aurélie Lelong, Christophe Lambert, Hélène Hégaret.

Parmi les microalgues responsables d'efflorescences d'algues toxiques, le genre *Alexandrium* (Dinophyceae, Gonyaulacales) est l'un des plus importants en terme d'intensité, de diversité et de distribution des efflorescences. Les espèces de ce genre ont la faculté de s'adapter rapidement à des conditions défavorables en se transformant en kyste temporaire. Malgré l'importance de cette forme dans le cycle de vie d'*Alexandrium*, peu de travaux ont étudié dans quelles conditions et à quelle vitesse les kystes temporaires retournent à l'état de cellule végétative et les modifications physiologiques qui y sont associées. Les souches AM89BM et CCMI 1002 de l'espèce *A. minutum*, respectivement toxiques et non toxiques, sont maintenues dans du milieu L1 à une irradiance 100 ± 10 $\mu\text{mol photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Les caractéristiques optiques et la fluorescence de chaque cellule sont mesurées par cytométrie de flux. Le profil physiologique des cellules végétatives de deux souches différentes de l'espèce *A. minutum* évolue différemment en conditions de culture, aussi bien à l'échelle d'une journée qu'à l'échelle d'un cycle de culture. Les résultats montrent aussi que la faculté des cellules d'*Alexandrium* à s'enkyster et à se dékyster évolue en fonction de la photopériode, de leur histoire d'enkystement temporaire, de l'environnement chimique et de la présence d'espèces productrices de composés allélopathiques toxiques. Ces résultats suggèrent qu'il est nécessaire de développer des approches similaires pour les souches étudiées en milieu naturel afin de mieux appréhender les facteurs à l'origine des efflorescences toxiques.

Mots clés : *Alexandrium minutum*, cytométrie de flux, kystes temporaires, fluorochrome.

Adaptation de *Plasmodium falciparum* dans sa phase erythrocytaire au stress oxydant lié aux maladies héréditaires du globule rouge - implication possible sur la résistance aux antipaludiques

Frédéric Arieu*

Unité d'Immunologie des Parasites, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75015 Paris

Les maladies héréditaires du globule rouge sont connues pour être une réponse évolutive du génome humain à la maladie palustre et à l'infection à *Plasmodium falciparum* en particulier. Elles entraînent le plus souvent une augmentation du niveau d'oxydation diminuant la durée de vie des globules rouges infectés par les *Plasmodium* et donc facilitant leurs éliminations.

Nous présentons les limites d'un scénario dans lequel des populations de *P. falciparum* auraient développé des voies adaptatives à ces maladies héréditaires du globule rouge et présentons des travaux préliminaires montrant que les mécanismes à l'origine de cette adaptation peuvent concourir à la baisse d'efficacité des antipaludiques oxydants au premier rang desquels les dérivés de l'artémisinine.

La kinésine 8 est essentielle à la gamétogenèse mâle de *Plasmodium berghei*

Delphine Depoix*, Tiphany Vucanovic, Thomas Duguet, Linda Kohl, Philippe Grellier.

UMR 7245 CNRS/MNHN, CP52 - 61, rue Buffon, 75231 PARIS Cedex 05, FRANCE

Au cours de son développement, *Plasmodium*, l'agent du paludisme, subit plusieurs phases de multiplication asexuée et une phase de multiplication sexuée chez le moustique vecteur. La formation des gamètes est une étape essentielle à la poursuite du cycle parasitaire. Durant la gamétogenèse mâle, un gamétocyte mâle va former 8 gamètes flagellés. Ces gamètes disposent d'un flagelle qui assure leur mobilité, essentielle à la fécondation du gamète femelle. La formation de ce flagelle est originale malgré sa structure classique (axonème de type «9+2»); les axonèmes sont assemblés très rapidement à l'intérieur du cytoplasme du gamétocyte mâle. On ne connaît toutefois que peu de protéines impliquées dans la formation et le fonctionnement des gamètes mâles de *Plasmodium*.

Chez les eucaryotes, les kinésines jouent des rôles essentiels dans la cellule. Pour déterminer l'implication potentielle de ces protéines motrices dans la gamétogenèse mâle de *Plasmodium*, nous avons délété le gène codant pour la kinésine 8 putative de *P. berghei*. Ce gène n'étant pas essentiel au cycle érythrocytaire, nous avons pu générer des mutants *Kin8(-)*. Après sélection et clonage, nous avons obtenu 2 clones *Kin8(-)* délétés pour le gène *Kin8*. L'analyse phénotypique de ces clones a mis en évidence un rôle essentiel de KIN8 dans la gamétogenèse mâle. En effet, les mutants *Kin8(-)* ne sont pas capables de réaliser une gamétogenèse complète puisqu'ils n'exflagellent pas. Des travaux sont en cours pour déterminer la localisation de la protéine KIN8 et préciser son rôle dans la gamétogenèse mâle.

Mycobacterium abscessus bénéficie de l'interaction avec l'amibe environnementale *Acanthamoeba polyphaga*

Fabienne Misguich*, Thérèse Deramault, Jean-Louis Herrmann

EA3647 Physiopathologie et Diagnostic des infections microbiennes (EPIM).
Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines. France.

Contexte : Les mycobactéries atypiques dites non tuberculeuses sont parmi les principaux pathogènes émergents dans la mucoviscidose et *Mycobacterium abscessus* est la principale espèce en cause chez les enfants et adolescents atteints de mucoviscidose (Griffith, 2003 et Olivier, 2003).

L'origine de la contamination par *M. abscessus* n'est pas encore connue, l'hypothèse la plus vraisemblable serait une contamination à partir de sources environnementales diverses, notamment hydro-telluriques.

Les amibes libres sont capables de coloniser tous les milieux, elles se nourrissent de bactéries, champignons, algues et certaines bactéries ont développé des mécanismes de résistance leur permettant de survivre à l'intérieur des amibes. On parle alors de Amoeba Resistant Bacteria (ARB) (Greub et Raoult, 2004¹). *M. abscessus* pourrait être une ARB.

M. abscessus existe sous deux morphotypes différents R (rugueux) et S (lisse). La forme rugueuse est clairement associée à une plus grande sévérité des infections au cours de la mucoviscidose et à une mortalité accrue. Le morphotype R ne présente aucun peptidoglycolipides dans la paroi (Howard *et al.* 2006) et dans des expériences de co-culture sur monocytes le variant R persiste et se multiplie contrairement au variant S (Byrd et Lyons, 1999).

Résultats : L'interaction possible entre l'amibe environnementale *Acanthamoeba polyphaga* et *M. abscessus* a été analysée dans des expériences de co-culture en milieu minimum. Le développement du morphotype R est significativement plus élevé que le morphotype S en présence d'amibes. Une analyse de la cytotoxicité des amibes semble montrer un effet protecteur des mycobactéries sur la survie des amibes dans ce milieu minimum. Des analyses en épifluorescence montre que les mycobactéries survivent longtemps dans des « vacuoles amibiennes ». L'acidification de ces vacuoles semble retardée pour le morphotype R par rapport au morphotype S (résultats préliminaires). Ces résultats suggèrent le rôle porteur des amibes environnementales pour cette espèce de mycobactérie pathogène pour l'homme.

Bibliographie :

Byrd et Lyons. 1999 Infection and Immunity, 67 : 4700-4707.

Griffith *et al.* 2003 American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 167 : 810-812.

Howard *et al.* 2006. Microbiology, 152 : 1581-1590.

Olivier *et al.* 2003 American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 167 : 828-834.

Séroprévalence et facteurs de risque de la toxoplasmose bovine dans la région de la "Zona da Mata", Minas Gerais, Brésil

Sthefane D'ávila^{1*}, Hugo Vieira Fajardo², Ronaldo Rocha Bastos³, Carolina Dutra, Cyrino³, Michelle de Lima Detoni⁴, João Luiz Garcia⁵, Leandro Batista das Neves⁶, José Leonardo Nicolau⁶ & Maria Regina Reis Amendoeira⁶

1-Département de Zoologie, Université Fédéral de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brésil

2-Université Fédéral de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brésil

3-Département de statistique, Université Fédéral de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brésil

4-Département de Biochimie, Université Fédéral de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brésil

5-Laboratoire de Protozoologie, Université de Londrina, Paraná, Brésil

6-Laboratoire de Toxoplasmose, Institut Oswaldo Cruz- Fiocruz, Rio de Janeiro, Brésil

*Les auteurs voudraient remercier la fondation FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), qui a financé la présentation de ce travail.

En ce qui concerne l'infection par *Toxoplasma gondii* chez l'Homme, les efforts pour élucider la réelle importance de la transmission horizontale entre hôtes sont très limités. La consommation de viande insuffisamment cuite et contenant la forme enkystée du parasite reste une des principales voies de transmission de la toxoplasmose aux humains. Pourtant, même si la détection de *T. gondii* dans les viandes est une mesure importante à court terme, les stratégies de contrôle nécessitent une connaissance plus approfondie de l'épidémiologie de la toxoplasmose chez les animaux d'élevage destinés à la consommation humaine. L'objectif de ce travail était d'investiguer la séroprévalence de la toxoplasmose bovine et d'évaluer les facteurs de risque liés à l'infection, dans la région Zona da Mata, Minas Gerais, Brésil. Les résultats ont montré que les principaux facteurs de risque pour l'acquisition d'infection à *T. gondii* sont liés au mode d'élevage et aux hôtes définitifs. Il a été démontré que le nombre d'animaux séropositifs était significativement lié à (1) la présence de chats domestiques, (2) la présence et nombre de chats errants (3) la libre circulation des chats dans la propriété (4) l'utilisation de chats pour contrôler les rats et (5) le stockage de ration. Nous avons observé deux modes d'élevage dans lesquels le pâturage est la source principale d'alimentation des bovins. Considérant que le pâturage reste une des principales sources d'acquisition de l'infection pour ingestion d'oocystes, il serait espéré un risque similaire entre les systèmes d'élevage extensif et semi-intensif. Pourtant, dans le présent travail, il a été observé que les fermes d'élevage extensif avaient un plus petit nombre d'animaux infectés. Nous avons également observé que chez les fermes d'élevage semi-intensif le stockage de ration était plus fréquent. D'ailleurs, un plus grand nombre d'animaux séropositifs a été observé chez les fermes où il y avait stockage de ration, indépendamment du type d'élevage. Ainsi, ces résultats indiquent que le stockage de ration peut être un important facteur de risque et le principal déterminant des différences en ce qui concerne la prévalence d'infection dans les deux systèmes d'élevage. Nous espérons que ces résultats pourront contribuer au développement de stratégies préventives au Brésil et dans d'autres pays en développement où les systèmes extensifs et semi-intensifs d'élevage de bovins sont très disséminés et où les efforts pour contrôler cette importante maladie zoonotique n'ont pas encore atteint le succès souhaité.

Protistes contre protistes : des parasites eucaryotes de microalgues toxiques

Laure Guillou*

UMR 7144, Station Biologique de Roscoff

L'existence de microparasites eucaryotes proches des dinoflagellés, est connue depuis longtemps dans le milieu marin, en particulier grâce aux travaux de deux français, les Professeurs Chaton (1920) et Cachon (1964). Leur importance écologique a cependant été confirmée lors de récents travaux de diversité génétique, révélant leur présence systématique dans les librairies génétiques effectuées à partir d'échantillons marins (Guillou et al. 2008). Ces groupes de parasites forment plusieurs lignées indépendantes à la base des dinoflagellés au sein des Alvéolés, dans lesquels on reconnaît les Syndiniales et les Perkinsozoa. Ces espèces sont capables d'infecter la plupart des compartiments du réseau trophique marin, depuis des microalgues (des dinoflagellés) aux métazoaires de type poissons et crustacés. Leur diversité génétique évaluée à partir d'échantillons naturels surpasse de loin le nombre d'espèces décrites aujourd'hui.

Ces dernières années, je me suis attachée à décrire le rôle écologique de ces parasites. Pour cela, j'ai suivi les efflorescences récurrentes de la microalgue toxique *Alexandrium minutum* (Dinoflagellé) le long des côtes bretonnes. Cette microalgue, décrite en méditerranée, fut détectée pour la première fois le long des côtes Atlantique et de Manche à la fin des années 1980, où elle a produit pendant près de 10 ans des efflorescences quasi annuelles dans de nombreux estuaires bretons, en particulier en rivière de Penzé. Or, depuis 2003, cette microalgue, bien que toujours présente en début d'été, y paraît cantonnée à de relative faible concentration cellulaire.

Grâce à des travaux effectués sur culture ou directement sur des échantillons naturels, nous avons pu suivre les dynamiques hôtes-parasites d'une année sur l'autre. Ces contrôles parasitaires sont multiples, car en réalité plusieurs parasites, capables d'infecter le même hôte, coexistent. Certains de ces parasites sont très spécifiques, et reviennent infecter le même hôte d'une année sur l'autre (Chambouvet et al. 2008). D'autres sont généralistes, et sont capables d'infecter un très grand nombre d'hôtes à la fois. La coexistence de l'ensemble de ces parasites et de leurs hôtes est suivie depuis 2004 en rivière de Penzé, ce qui nous permettra à terme d'avoir une idée de la stabilité de ces contrôles biologiques. Je présenterai également de récents résultats concernant le cycle de vie de ces parasites, et leur capacité à survivre dans le kyste de résistance de leur hôte (Chambouvet et al. 2011).

Cachon, J. (1964) Contribution à l'étude des péridiniens parasites. Cytologie, cycles évolutifs. Ann Sc Nat Zool Paris VI: 1-158.

Chatton,É.(1920).Les Péridiniens parasites : morphologie, reproduction, éthologie. Arch. Zool. Exp. Gen. 59, 1-475.

Chambouvet A., Morin P., Marie D., Guillou L. (2008). Control of toxic marine dinoflagellate blooms by serial parasitic killers. Science. 322: 1254-1257.

Chambouvet A., Alves-de-Souza C., Cueff V., Marie D., Karpov S., Guillou L. (2011). Interplay between the parasite *Amoebophrya* sp. (Alveolata) and the cyst formation of the red tide dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea*. Protist. 162:637-649

Guillou, L., Viprey, M., Chambouvet, A., Welsh R. M., Massana, R., Scanlan D.J., Worden A. Z. (2008). Widespread occurrence and genetic diversity of marine parasitoids belonging to Syndiniales (Alveolata). Environmental Microbiology. 10(12): 3349-3365.

Interactions entre Oe-Gal (*Ostrea edulis* Galectin) et le parasite protozoaire *Bonamia ostreae*

M. Prado-Alvarez¹, B. Chollet¹, N. Faury¹, M. Robert¹, B. Morga¹, D. J. Ibara¹, C. Lupo¹, T. Renault¹, I. Arzul^{1,*}.

¹ IFREMER, Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade, France

Bonamia ostreae est un parasite protozoaire affectant l'huître plate *Ostrea edulis*. Ce parasite cible les hémocytes, cellules notamment impliquées dans les mécanismes de défenses de l'huître.

Une approche d'hybridation soustractive et suppressive avait permis de séquencer et caractériser chez l'huître plate un gène codant une galectine (Oe-Gal) (Morga et al. 2010). La caractérisation de ce gène a permis l'obtention de protéines recombinantes et d'anticorps anti Oe-Gal.

Les interactions entre Oe-Gal et *B. ostreae* ont été dans un premier temps étudiées *in vitro* en mesurant l'internalisation du parasite dans des hémocytes préalablement soumis à différents traitements. Ces traitements ont consisté à incuber les hémocytes en présence d'inhibiteurs de galectine tels que glucose, galactose, Beta-lactose et anticorps anti-Oe-Gal à différentes concentrations. Ces différentes expériences ont généralement conduit à une diminution de l'internalisation du parasite dans les hémocytes. Au contraire, une incubation du parasite en présence de galectine recombinante avant la mise en contact avec les hémocytes a contribué à une augmentation du nombre d'hémocytes infectés.

Ainsi, Oe-Gal semble impliquée dans l'internalisation de *B. ostreae* dans les hémocytes *in vitro*.

Cette étude a été complétée par l'analyse d'huîtres plates provenant d'une population infectée par *B. ostreae*. La charge parasitaire ainsi que l'expression de Oe-Gal ont été déterminées pour six organes chez 50 huîtres. Une corrélation positive a été observée entre les deux paramètres mesurés dans les branchies, siège privilégié de l'infection à *B. ostreae*.

Ces résultats contribuent à une meilleure compréhension des interactions entre *Bonamia ostreae* et *Ostrea edulis* et plus particulièrement des mécanismes permettant au parasite de s'installer et de survivre dans les hémocytes.

Morga B, Arzul I, Faury N, Segarra A, Chollet B, Renault T. 2011. Molecular responses of *Ostrea edulis* haemocytes to an *in vitro* infection with *Bonamia ostreae*. *Dev Comp Immunol*. 35(3):323-33.

Approche de la notion de Multistress chez les bivalves marins : les interactions hôtes-parasites chez la palourde japonaise (*Ruditapes philippinarum*)

X. de Montaudouin

Université Bordeaux 1, EPOC, UMR 5805, F-33120 Arcachon, France

Les mollusques bivalves en milieu littoral sont les réceptacles privilégiés d'un grand nombre d'agents plus ou moins pathogènes dans un environnement qui lui-même n'est pas indemne de pollution. La palourde japonaise (*Ruditapes philippinarum*), seconde espèce de bivalve exploitée dans le monde, a été à ce titre très étudiée. Cependant, la responsabilité exacte des agents pathogènes dans des modèles de dynamique des populations-hôtes reste méconnue. La connaissance des effets des interactions entre pathogènes, mais également entre pathogènes et autres facteurs de stress, demeure aussi limitée. C'est dans ce champ d'investigations encore largement en friche que s'inscrivent les travaux menés sur le Bassin d'Arcachon ces 10 dernières années et exposés ici.

Face à un stock de palourde en déclin, des facteurs de régulation ont été recherchés au sein d'éventuels agents infectieux. Les parasites trématodes, généralement très prévalents chez les mollusques, demeurent discrets chez cette espèce exotique, illustrant ainsi la théorie dite d' « Enemy Release Hypothesis ». Si la bactérie *Vibrio tapetis* n'a pas été recherchée spécifiquement, la maladie associée et fortement délétère dans le nord du pays (Maladie de l'Anneau Brun) est présente ici à un niveau très faible. Finalement, le parasite le plus prévalent (90% des adultes) et à des niveaux d'infestation les plus élevés (10^5 cellules/gPF branchie) reste le protozoaire *Perkinsus olseni*. La dynamique du système palourde/*Perkinsus* semble révéler un caractère temporellement ponctuel de l'infection d'une part et une forte inertie en termes de dépuraison d'autre part. Le taux de croissance est négativement impacté par ce parasite, tandis que l'indice de condition est généralement positivement corrélé à l'intensité parasitaire. A l'occasion des campagnes d'échantillonnage, une nouvelle maladie, la Maladie du Muscle Marron (3M), a été découverte en 2005. Elle affecte jusqu'à 50% des adultes sur les zones les plus touchées. L'identité de l'agent étiologique reste indéterminée même si une responsabilité virale est plausible. Les conditions environnementales favorables au développement de ces 2 dernières maladies ont révélé l'importance de facteurs tels le taux d'émersion, la teneur en matière organique ou la salinité. Il n'apparaît pas de relation évidente d'occurrence entre la perkinsose et la 3M.

Plus récemment, nos études se sont tournées vers la réponse des palourdes (synthèse de métallothionéines, réponses hématocytaires) à des stress multiples (métal x bactérie x trématode), en conditions expérimentales. Nos résultats mettent en évidence des schémas complexes d'interactions et suggèrent également un effet mémoire de populations soumises à un stress « chronique ».

Différences dans la capacité de photoprotection des diatomées microphytobenthiques des vasières intertidales: conséquences possibles sur leur répartition spatiale liée à l'environnement lumineux

Alexandre Barnett¹, Vona Meleder², Lander Blommaert³, Pierre Gaudin², Koen Sabbe³, Christine Dupuy¹ & Johann Lavaud¹

1 UMR7266 LIENSs, Institut du Littoral et de l'Environnement, CNRS/Université de La Rochelle, France.

2 UPRES EA 2160 'Mer, Molécules, Santé', Université de Nantes, France.

3 Protistology & Aquatic Ecology Laboratory, Dept Biology, Ghent University, Belgium.

Les écosystèmes côtiers comptent parmi les zones les plus productives du monde. Leur forte productivité est majoritairement supportée par les vasières estuariennes intertidales grâce à l'activité intensive des microalgues autotrophes : le microphytobenthos. Sous nos latitudes, le microphytobenthos est largement dominé par les diatomées qui peuvent être divisées en trois groupes : épipéliques, épipsammiques et tychoplanctoniques. Les espèces épipéliques se trouvent dans les sédiments vaseux où elles sont capables de migrer vers la surface à marée basse afin d'effectuer la photosynthèse. Les espèces épipsammiques sont rencontrées dans des sédiments plus sableux où elles vivent attachées aux particules de sédiment. Les espèces tychoplanctoniques peuvent être rencontrées dans tous les habitats mais ont besoin d'effectuer une partie de leur cycle de vie en suspension dans la colonne d'eau. L'environnement lumineux des vasières intertidales est fortement influencé par le sédiment (pénétration de la lumière, turbidité de l'eau), le cycle tidal, et surtout par les variations de lumière saisonnières et journalières. Par conséquent, les trois groupes vont subir des environnements lumineux pouvant être extrêmes et très différents en termes d'intensités et de fluctuations (amplitude, fréquence). Les diatomées ont mis au point des processus physiologiques permettant une régulation rapide de l'activité photosynthétique, plus spécialement pour résister aux excès de stress lumineux. Dans ses procédés, le cycle des électrons du photosystème II (PSII CET), le quenching non photochimique de la fluorescence chlorophyllienne (NPQ) et le cycle des xanthophylles (XC) qui y est associé sont connus pour être parmi les mécanismes les plus importants. Afin d'avoir un aperçu de la capacité photoprotectrice des diatomées benthiques, nous avons effectué des expérimentations sur 15 espèces isolées à partir de différents écosystèmes (Côte Atlantique et Mer du Nord). Nous avons mesuré le PSII CET, le NPQ et le XC par des cinétiques lumineuses de différentes intensités allant de l'obscurité jusqu'à une lumière de plein soleil ($2000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Nous avons notamment observé que les diatomées épipsammiques montrent un plus fort NPQ ainsi qu'un plus fort PSII CET que les espèces épipéliques et tychoplanctoniques (croissance en mode benthique). Ces résultats seront discutés au regard de 1) l'habilité du microphytobenthos à résister à une exposition prolongée à un stress lumineux pouvant être nuisible pour la productivité photosynthétique, 2) la capacité/incapacité à migrer au travers du sédiment et de la position physique des cellules à un certain niveau de lumière afin de répondre à la question : est-ce que la capacité de photoprotection mécanique (migration) est plus importante que la capacité de photoprotection physiologique (PSII CET, NPQ) chez les diatomées épipéliques ?

Analyse de la diversité eucaryote dans les écosystèmes marin par séquençage massif de fragments d'ARN ribosomique: les jeux de données Biomarks et Tara-Océans

Stéphane Audic*

CNRS - Équipe Évolution de Plancton et Paléo-Océans - CNRS UMR 7144 Adaptation et Diversité en Milieu Marin - Station Biologique de Roscoff.

Dans les dernières années, l'équipe EPPO a collecté une quantité importante de données génétiques, soit dans le cadre du projet Biomarks, soit au cours de l'expédition Tara-Océans. Dans le cadre du projet BioMarks, 8 instituts de recherche européens et plus de 30 experts en taxonomie des eucaryotes, évolution, écologie et biologie marine, génomique, ou biologie moléculaire ont collecté des échantillons génétiques et morphologiques pour l'exploration de la diversité des protistes le long des côtes européennes. Des échantillons ont été prélevés suivant un protocole commun à trois profondeurs (subsurface, maximum de chlorophylle, sédiments de surface), fractionnés en taille ([0.8-3],[3-20],[20-2000] μm), pour accéder aux différentes classes d'organismes eucaryotes. Le projet Tara-Océans a, au cours de ces trois dernières années, collecté des échantillons de même type lors d'une circumnavigation où plus d'une centaine de chercheurs se sont succédés. Dans ce cadre, des échantillons de plancton, correspondant à plusieurs fractions de tailles (essentiellement [0.8-5],[5-20],[20-180] et [180-2000] μm) et plusieurs profondeurs (subsurface, DCM, mesopélagique) ont été collectés, sur 1500 points d'échantillonnage.

Dans ces deux projets, la diversité des organismes présents dans les échantillons est étudiée par le biais du séquençage massif de fragments de la sous-unité 18S de l'ARN ribosomique, le fragment V4, d'une longueur moyenne de 380 nucléotides, ou le fragment V9, de longueur moyenne 130 nucléotides, par des technologies de type 454 ou Illumina. Nous aborderons les méthodes de nettoyage des séquences, filtrage sur la qualité, clusterisation et annotation taxonomique. Nous décrirons l'étendue de ces jeux de données. Nous insisterons sur la nécessité de posséder des bases de séquences de référence de bonne qualité pour produire une assignation taxonomique elle même de qualité. Nous présenterons quelques exemples d'analyses, insistant par exemple sur le nombre relativement restreint de séquences distinctes qui sont retrouvées dans l'ensemble des stations de prélèvement, mais qui représentent en fait une fraction très importante de l'ensemble des séquences obtenues. Nous décrirons également un certain nombre de patrons qui émergent lors de ces différentes analyses, comme le fait que les petites fractions de taille sont les plus diversifiées, que ces dernières sont bien plus structurées le long de la colonne d'eau que ne le sont les fractions de tailles supérieures, qui semblent être plus sensibles à la géographie.

Parasites Ciliés et Dicyémides des sacs rénaux de Céphalopodes : évaluation de la biodiversité par des approches morphologiques et moléculaires

Dhikra Souidene¹, Marc Dellinger², Philippe Grellier ², Mohamed Salah Romdhane¹ et Isabelle Florent^{2*}

1 Institut National Agronomique de Tunis, Unité de recherche "Ecosystèmes et Ressources Aquatiques"

2 Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, UMR 7245 CNRS "Molécules de communication et adaptation des micro-organismes", Equipe "Adaptation des Protozoaires à leur Environnement"

Les sacs rénaux des céphalopodes sont communément le siège d'infections parasitaires spectaculaires provoquées principalement par des ciliés du genre *Chromidina* et des mésozoaires, les Dicyémides. Actuellement, très peu de données morphologiques et moléculaires sont disponibles pour ces ciliés et les informations concernant les Dicyémides des côtes européennes sont parcellaires ; ils sont surtout documentés au Japon (Furuya et al., 2004; Pascual and Hochberg, 1996; Pawlowski et al., 1996). Nous avons entrepris d'associer des études morphologiques et moléculaires pour évaluer la diversité et les effets de ces parasites au sein des céphalopodes des côtes européennes. Nous présentons ici les résultats de 2 campagnes réalisées sur le site de Concarneau (2011, 2012).

Les analyses anatomiques et morphologiques réalisées sur des seiches (*Sepia orbignyana* et *Sepia officinalis*) et des élédones (*Eledone cirrhosa*) ont clairement révélé la présence de Dicyémides de morphotypes distincts, mais la présence de ciliés reste encore en exploration. L'analyse moléculaire des échantillons parasitaires prélevés (amplification du gène de l'ARN 18S avec des amorces universelles et séquençage), a permis, pour le moment, de produire 4 nouvelles séquences de gènes d'ARNr 18S qui correspondent clairement à des parasites Dicyémides non encore décrits dans les bases de données. Ce travail permet de poser les bases d'une étude qui sera prochainement étendue aux côtes tunisiennes pour explorer la biodiversité et les relations phylogénétiques des Dicyémides et des ciliés parasites, avec les autres groupes eucaryotes, ainsi que leur impact sur les hôtes.

Furuya, H., Ota, M., Kimura, R., and Tsuneki, K. (2004). Renal organs of cephalopods: a habitat for dicyemids and chromidinids. *J Morphol* 262, 629-643.

Pascual, S., and Hochberg, F.G. (1996). Marine parasites as biological tags of cephalopod hosts. *Parasitol Today* 12, 324-327.

Pawlowski, J., Montoya-Burgos, J.I., Fahrni, J.F., Wuest, J., and Zaninetti, L. (1996). Origin of the Mesozoa inferred from 18S rRNA gene sequences. *Mol Biol Evol* 13, 1128-1132.

Etude de l'influence du diuron sur la croissance de *Tetrahymena pyriformis* par Microcalorimétrie

Geneviève Bricheux*, Jacques Bohatier, Jean-Pierre Morel, Nicole Morel-Desrosiers

Clermont Université, LMGE, UMR CNRS 6023, 24 avenue des Landais, B.P 80026, 63171 Aubière cedex.

La microcalorimétrie a été utilisée pour observer l'évolution de l'activité métabolique du cilié *Tetrahymena pyriformis* en présence de concentrations croissantes en herbicide diuron. En parallèle, la croissance des ciliés a été suivie par cytométrie en flux.

L'écotoxicologie étudie les effets des facteurs chimiques, physiques et biologiques sur l'ensemble des êtres vivants. La recherche en écotoxicologie a permis de mettre au point différents outils permettant de définir la toxicité d'un produit vis à vis des êtres vivants (que ce soit des organismes cibles ou non-cibles) ou encore d'évaluer l'état d'un milieu naturel. Certains de ces outils sont déjà couramment utilisés: c'est le cas de certains tests écotoxicologiques de laboratoire.

Tetrahymena pyriformis est un cilié ubiquiste qui est couramment utilisé dans ces tests car il a montré une grande sensibilité comparé à certains tests bactériens. C'est un cilié facile à cultiver avec un temps de génération relativement court, dans un milieu défini. On peut ainsi tester l'effet de substances sur plusieurs générations.

La microcalorimétrie offre de nombreux avantages dans le domaine de l'écotoxicologie, notamment en permettant une détermination rapide et précise du taux de croissance et du temps de génération par la caractérisation thermodynamique des réactions biochimiques qui interviennent lors de la croissance d'une culture.

Lors de notre étude, l'observation du flux de chaleur en fonction du temps a permis de mettre en évidence un dérèglement important de l'activité métabolique lorsque la concentration en herbicide devient forte, ce qui laisse supposer une altération sévère de la structure du système dans ces conditions.