



Projet de thèse proposé – ED 305

Equipe d'accueil :	CRIOBE, USR 3278 CNRS-EPHE-UPVD
Directeur :	Serge PLANES
Adresse :	Université de Perpignan, 58 av. Paul Alduy, 66860 Perpignan cedex
Directeur de thèse :	Bernard BANAIGS (CRIOBE, chimie substances naturelles, écologie chimique)
Co-encadrant(e) :	Isabelle BONNARD (CRIOBE, chimie substances naturelles, métabolomique environnementale)
Titre du projet de recherche	Réponse métabolique du corail de feu à des conditions environnementales contrastées le long du gradient de biodiversité Indo-Pacifique
Mots-clés	Ecologie chimique, Métabolomique environnementale.

Contexte scientifique

Le CRIOBE est une unité de service et de recherche du CNRS installée sur deux sites géographiques, l'Université de Perpignan et la station de terrain à Moorea en Polynésie française. Le CRIOBE est un laboratoire phare en écologie des récifs coralliens, il pilote le LabEx CORAIL depuis 2010.

Comme les environnements terrestres, la plupart des mers et océans à travers le monde sont soumis à de fortes pressions dues principalement aux changements climatiques globaux, à la destruction d'habitats et à la surexploitation. Ces changements rapides ont déjà induit de fortes modifications de la biodiversité, avec des écosystèmes entiers cessant de fonctionner dans leur forme naturelle.

La goélette scientifique Tara effectuera une nouvelle expédition dans le Pacifique de 2016 à 2018, avec pour objectif d'étudier la diversité cachée du corail et mieux appréhender ses capacités d'adaptation aux changements climatiques et aux pressions anthropiques¹. Tara suivra les gradients est-ouest et sud-nord de biodiversité dans le Pacifique, de la Colombie au Japon, et de la Nouvelle-Zélande au Japon (cf cartes ci-contre). Le CRIOBE, avec Serge Planes, assure la direction scientifique de cette expédition. Dans le cadre de cette mission, 3 espèces seront échantillonnées à grande échelle, 2 coraux scléactiniaires, *Porites lobata* et *Pocillopora meandrina*, et 1 hydrozoaire, le corail de feu *Millepora platyphylla*. Sur ces espèces cibles la biodiversité et la variabilité moléculaire de l'holobionte corallien seront étudiées en réponse aux stress environnementaux, le long du gradient de biodiversité.



Les différents partenaires du complexe corail-algues-bactéries-virus-protistes constituant l'holobionte seront identifiés et étudiés par différentes approches « omiques » ; des technologies de pointe de séquençage à très haut débit seront développées afin d'appréhender la diversité microbienne totale impliquée dans le fonctionnement de l'holobionte à travers le Pacifique et ainsi évaluer le potentiel d'adaptation des coraux aux

changements climatiques. Parmi les objectifs spécifiques du projet global, il s'agira de i) définir la carte de référence de diversité microbienne de l'holobionte corallien autour du triangle du corail (zone de l'océan Pacifique, en rouge sur la carte, qui concentre la plus grande biodiversité marine au monde), ii) définir les patrons de diversité microbienne, et suivre l'évolution le long des gradients est-ouest et sud-nord, à grande échelle et à l'échelle locale dans des environnements contrastés, iii) comparer les transcriptomes et métabolomes afin d'évaluer la contribution de la diversité microbienne aux phénomènes d'adaptation locale aux changements climatiques, et iv) de rechercher de nouveaux marqueurs de bonne santé des coraux.

La première année, l'échantillonnage sera effectué le long du gradient est-ouest sur 21 îles (3 sites/île, 10 colonies/site) ; pour chaque espèce 630 échantillons seront prélevés pour les analyses ADN/ARN (métabarcoding, métaG et métaT), 630 pour les analyses de biomarqueurs et télomères, et 630 pour l'analyse du métabolome.

Projet de thèse

• **Modèle d'étude :** *Millepora platyphylla*

Millepora platyphylla est un cnidaire de la classe des hydrozoaires. Bien que ne faisant pas partie des coraux scléactiniaires (coraux durs), les *Millepora* sont considérés à la fois comme des membres et comme des ennemis naturels des communautés de coraux durs ; ils participent activement à la construction des récifs et entrent en compétition avec les coraux en préemptant l'espace disponible, formant des colonies de grandes surfaces, massives, de couleur brun clair. C'est une espèce à large répartition présente à faible profondeur (0-20 m) dans les eaux tropicales de l'Indo-Pacifique, de la Mer Rouge aux îles Pitcairn et du Japon à l'Australie². Comme les scléactiniaires, ils vivent en association symbiotique avec des zooxanthelles. Ils sont urticants et leur simple contact provoque de vives brûlures ; ils sont appelés coraux de feu car ils possèdent des organites vénéneux, les nématocystes, capables, suite à un stimulus mécanique ou chimique, de se planter dans leur proie avec des crochets. Après pénétration le venin contenu dans le nématocyste est injecté dans la proie. Ce venin est constitué d'un mélange de protéines cytotoxiques, hémolytiques ou possédant une activité de type PLA2. Plusieurs toxines ont été mises en évidence (milleporin-1, ...) mais une seule, la MCTx-1 (18 kDa), a été caractérisée d'un *Millepora*³. Des toxines non-protéiques ont également été mises en évidence mais n'ont pas été caractérisées^{4,5}.

• **Objectifs**

A notre connaissance aucune étude du métabolome n'a été menée sur cette espèce, ni même sur le genre. Il sera donc important dans un premier temps de définir l'expression métabolique de base (empreinte métabolique "moyenne") de l'holobionte de *Millepora platyphylla*, et éventuellement d'établir son profil métabolique (caractérisation des principaux métabolites). **Mais quel est l'effet des variations naturelles sur la diversité et la plasticité du métabolome ? Quelle est la distance métabolique entre différentes conditions environnementales ?** L'analyse, par une approche métabolomique, des échantillons prélevés lors de l'expédition Tara-Pacifique permettra de répondre à ces questions, de voir dans quelle mesure "l'holométabolome" de *Millepora* varie avec le gradient géographique, et si cette variabilité est liée à la variabilité génétique, à la diversité microbienne associée et/ou à des perturbations environnementales.

Les *Millepora* sont relativement protégés des prédateurs et épibiontes, même si quelques mollusques corallivores sont retrouvés sur les colonies. Les *Millepora* sont des espèces opportunistes, à forts taux de croissance, qui possèdent des stratégies agressives de colonisation de substrats ; ils sont capables de croître sur des coraux durs⁶. **Ces avantages adaptatifs sont-ils liés à la seule présence des nématocystes et de leurs toxines, actifs par contact, ou également à l'excrétion de métabolites secondaires à activités cytotoxiques, antiappétantes ou antifouling ?**

Il a été observé en Polynésie française que les colonies de *Millepora platyphylla* constituaient des oasis de survie pour des espèces de coraux scléactiniaires (*Acropora*, *Pocillopora*) sensibles aux perturbations environnementales, favorisant ainsi la persistance de ces coraux lors d'invasion d'*Acanthaster*⁷. La cohabitation de proximité entre espèces concurrentes n'est viable et ne résiste à des stress intenses que si les avantages de l'interaction entre les 2 espèces sont plus importants que les effets antagonistes directs (compétition pour l'espace)⁸. **Cette relation Scléactiniaire/*Millepora* est-elle médiée par des métabolites secondaires ?**

En résumé, ce projet possède à la fois un axe analytique complet et un axe d'écologie intégrée. Il permettra au candidat de mettre en oeuvre les dernières approches de métabolomique environnementale, et de les utiliser dans un contexte d'analyses de matrices complexes et de biologie des systèmes multi-omique appliquée à l'environnement.

• Approche méthodologique

Chimie des substances naturelles :

La caractérisation du métabolome sera réalisée avec les méthodes classiques en chimie des substances naturelles (extraction, fractionnement, purification et élucidation structurale par spectroscopie RMN et de masse), à partir de prélèvements effectués à Moorea.

Métabolomique environnementale :

Pour l'étude du métabolome de l'holobionte de *Millepora platyphylla* et de sa variabilité (échantillonnage Tara-Pacifique) nous proposons de développer un protocole expérimental global combinant :

- l'extraction des métabolites par une extraction biphasique afin de prendre en compte la portion du métabolome la plus large possible (métabolites polaires, moyennement polaires et lipophiles),
- l'acquisition des empreintes métaboliques par des techniques analytiques complémentaires (RMN, LC-MS/MS, GC-MS),
- le pré-traitement des données (correction de ligne de base, alignement de pics, normalisation, ...) à l'aide d'outils logiciels adaptés (Matlab/icoshift, R/XCMS, ...),
- et des méthodes d'analyse statistique multivariée (ACP, PLS-DA, ...).

Ecologie chimique :

Des extraits hydroalcooliques et organiques seront préparés et testés pour leurs activités antifouling (souches marines formant des biofilms, larves de coraux, ...) et répulsives envers des prédateurs potentiels. Le potentiel de colonisation de substrats vivants (coraux sclérectiniaires) sera évalué en aquarium en testant les extraits hydroalcooliques et organiques préparés sur des colonies de coraux maintenus en aquarium afin d'observer d'éventuelles nécroses. Un fractionnement bio-guidé des fractions "actives" permettra d'isoler les métabolites impliqués dans la colonisation de l'espace et la compétition entre espèces.

Des prélèvements de terrain (Moorea) seront également effectués à différents endroits d'une colonie (centre, bords sans compétiteur et bords en phase de recouvrement de corail) afin de comparer le contenu métabolique de l'holobionte soumis à des pressions biotiques différentes.

L'interaction *Millepora*/coraux/prédateurs sera testée en aquarium. Des boutures *Millepora platyphylla* et de coraux (*Acropora*, *Pocillopora*) seront maintenues en aquarium en bacs séparés ou mixtes et soumis à des prédateurs potentiels (corallivores). Des prélèvements seront réalisés à différents temps de l'expérience. Les échantillons prélevés seront analysés en suivant le protocole mis en place. L'approche métabolomique devrait permettre de mettre en évidence les composés responsables des interactions, positives ou négatives, *Millepora*/prédateur, *Millepora*/coraux/prédateurs et *Millepora*/compétiteur.

Les outils de chimie analytique permettant cette étude sont directement accessibles à l'UPVD, le CRIOBE hébergeant le plateau technique d'analyses chimiques de la plateforme Bio2Mar. Le travail expérimental d'écologie chimique sera effectué à Moorea.

Profil du candidat / compétences

Le (la) candidat(e) devra être titulaire d'un master 2 ou d'un diplôme équivalent (diplôme d'ingénieur chimiste) et démontrer des compétences en chimie analytique et chimie des substances naturelles. Il (elle) devra maîtriser les outils classiques de purification et d'analyse structurale (RMN, spectrométrie de masse). Une expérience dans le traitement des données métabolomiques (XCMS, Galaxy, W4M, ...) sera également considérée comme un atout pour le candidat.

Le candidat doit avoir des prédispositions excellentes pour travailler en équipe.

Collaborations

- Emilie BOISSIN : CRIOBE (Biologie marine, biogéographie, génétique des populations).
- Olivier THOMAS : Marine Biodiscovery, School of Chemistry, University Road, National University of Ireland Galway. (Chimie des substances naturelles, écologie chimique, métabolomique environnementale).

-
- ¹ <http://oceans.taraexpeditions.org/m/environnement/ocean-biodiversite/animal-mineral-vegetal-les-coraux-a-la-croisee-des-chemins/>
- ² Lewis JB. Biology and Ecology of the hydrocoral *Millepora* on Coral reefs. *Advances in marine biology*, 2006, 50:1-55.
- ³ Iguchi A, Iwanaga S, Nagai H, Isolation and characterization of a novel protein toxin from fire coral. *Biochemical and biophysical research communications*, 2008, 365, 107-112.
- ⁴ Garcia-Arredondo A, Murillo-Esquivel L, Rojas A, Sanchez-Rodriguez J. Characteristics of hemolytic activity induced by the aqueous extract of the Mexican fire coral *Millepora complanata*. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*, 2014, 20:49
- ⁵ Garcia-Arredondo A, Rojas-Molina A, Bah M, Ibarra-Alvarado C, Gallegos-Corona MC, Garcia-Servin M. Systemic toxic effects induced by the aqueous extract of the fire coral *Millepora complanata* and partial purification of thermostable neurotoxins with lethal effects in mice. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2015 , 169, 55-64.
- ⁶ Dubé CE, Boissin E, Planes S. Overgrowth of living scleractinian corals by the hydrocoral *Millepora platyphylla* in Moorea, French Polynesia. *Mar Biodiv*, 2015, DOI 10.1007/s12526-015-0392-y
- ⁷ Kayal M and Kayan E. Colonies of the fire coral *Millepora platyphylla* constitute scleractinian survival oases during *Acanthaster* outbreaks in French Polynesia. *Marine Biodiversity*, 2016, DOI 10.1007/s12526-016-0465-6.
- ⁸ Kayal M, Lenihan HS, Pau C, Penin L, Adjeroud M. Associational refuges among corals mediate impacts of a crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* outbreak. *Coral Reefs*, 2011, 30:827–837.