

## Projet de thèse proposé – ED 469

Laboratoire d'accueil :	Laboratoire des Micro-Algues Toxiques, Institut Louis Malardé (ILM)
Adresse :	BP 30, 98713 Papeete-Tahiti, Polynésie française
Collaborations :	Laboratoire PHYC, Ifremer Nantes Station de Biologie Marine, Ifremer Concarneau
Directeurs de thèse (HDR) :	Mireille CHINAIN (ILM) - Philipp Hess (Ifremer)
Co-encadrants :	Taiana Darius (ILM) - Nicolas Chomérat (Ifremer) - Mélanie Roué (IRD) - Manoëlla Sibat (Ifremer)
Co-financements :	Délégation à la recherche de Polynésie française (DREC) Université de la Polynésie française (UPF)
Titre du projet de thèse :	« Ciguatera et changement global : effets de la température, du pH et de la disponibilité en nutriments sur la croissance et la production de ciguatoxines chez <i>Gambierdiscus</i> » - <b>GLOBALCIG</b>
Durée :	1 <sup>er</sup> septembre 2017 - 31 août 2020
Mots-clé :	<i>Gambierdiscus</i> spp – ciguatera - cultures <i>in vitro</i> - écophysiologie - toxicité - CBA-N2a - RBA fluorescent - LC-MS/MS - changement global

### Contexte scientifique

La ciguatera est une intoxication alimentaire résultant de la consommation de poissons lagunaires contaminés par de puissantes neurotoxines, les ciguatoxines (CTXs). Les CTXs sont produites par une micro-algue unicellulaire, *Gambierdiscus*, qui prolifère de manière épisodique dans les écosystèmes coralliens fortement dégradés. La bioaccumulation des CTXs dans les réseaux trophiques marins aboutit, à terme, à l'intoxication du consommateur dernier maillon de la pyramide alimentaire, et génère également de graves problèmes sanitaires et économiques au sein des populations insulaires du globe très dépendantes des ressources lagunaires pour leur subsistance <sup>1</sup>.

Les perturbations naturelles (e.g. cyclone, tsunami, blanchissement corallien, pullulation d'*Acanthaster planci*, etc.) ou d'origine anthropique (dynamitage, remblai, extraction de soupe de corail, etc.) qui s'exercent sur les écosystèmes coralliens sont considérés comme autant de facteurs susceptibles de favoriser des flambées de ciguatera. En outre, l'une des principales conséquences du changement global est l'extension récente des aires de prolifération du dinoflagellé *Gambierdiscus* aux zones tempérées du globe <sup>2,3,4,5</sup>, et le signalement récurrent de **cas d'importation** et/ou de **cas endogènes** de ciguatera dans des régions jusqu'alors épargnées par le phénomène, dont l'Europe <sup>6,7</sup>.

Au total, 15 espèces de *Gambierdiscus* sont connues à ce jour contre seulement 6 espèces recensées au début des années 2000s <sup>8,9</sup>. Mais paradoxalement, pour beaucoup de ces nouvelles espèces, on ne dispose encore que de très peu de données sur l'influence des facteurs physico-chimiques sur les performances éco-physiologiques de la micro-algue dont vont dépendre à leur tour la distribution géographique et l'abondance de ces espèces au sein des populations naturelles de la micro-algue. En effet, les premières études visant à documenter les seuils de tolérance de plusieurs espèces de *Gambierdiscus* vis-à-vis de variables environnementales telles que la température, la salinité ou encore l'éclairement n'ont émergé que très récemment <sup>10,11,12,13</sup>.

En conditions *in vitro*, les cellules de *Gambierdiscus* sont capables de produire plusieurs types (ou analogues) de CTXs algales <sup>1,14</sup>, chaque espèce étant caractérisée par un profil toxinique propre. Notons que la production en CTXs chez la micro-algue varie non seulement selon l'espèce considérée (variabilité interspécifique) mais

également selon les conditions de culture <sup>14,15,16,17</sup>. Cette variabilité qui peut également s'observer entre différents clones d'une même espèce (variabilité intra-spécifique) témoigne de l'extrême complexité des mécanismes régissant la toxinogénèse chez ce dinoflagellé <sup>14</sup>. Enfin, lors de leur bioaccumulation ultérieure dans les réseaux trophiques, ces CTXs algales vont subir des phénomènes de biotransformation à l'origine de la grande diversité des CTXs rencontrées au niveau des hôtes pisciaires<sup>18,19</sup>. Toutefois, nos connaissances sur la chimio-diversité des CTXs algales et le potentiel toxique propre aux 15 espèces de *Gambierdiscus* connues à ce jour, demeurent encore très parcellaires car seule une poignée de laboratoires dans le monde disposent d'une algothèque et de l'accès à des souches véritablement toxiques de la micro-algue. Or ce fonds de connaissance est essentiel à la compréhension des mécanismes à l'origine des importantes variations observées au niveau de la sévérité des flambées de ciguatéra, d'une région du globe à l'autre. Par ailleurs, la connaissance des structures chimiques des différents analogues de CTXs produits par la micro-algue peut également contribuer à clarifier les réactions de biotransformations (enzymatiques, oxydatives, etc.) subies par ces CTXs algales lors de leur transfert dans les réseaux trophiques marins.

S'agissant de la détection des CTXs, le choix d'un test spécifique par un laboratoire dépend généralement de l'objectif visé, chaque test possédant ses avantages et ses limitations propres: identification de la famille de toxines incriminées, évaluation de la toxicité à des fins de recherche, garantie de la sécurité sanitaire des produits marins mis sur le marché, etc. Les 2 tests les plus utilisés actuellement pour détecter et quantifier les CTXs sont le CBA-N2a (test de cytotoxicité sur neuroblastome) et la LC-MS/MS (chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem) <sup>20</sup>. Par ailleurs, l'expansion récente des cas de ciguatéra à l'Europe et la multiplication des programmes de surveillance qui s'en est suivie ont conduit, ces dernières années, à une diversification tous azimuts de nouvelles techniques de dosage des CTXs <sup>21,22,23</sup> dont l'intérêt potentiel comme outil de contrôle dans les programmes de surveillance sanitaire en voie d'être implémentés à l'échelle du globe, reste encore à être démontré. D'où la difficulté rencontrée aujourd'hui dans l'interprétation des résultats et la comparaison inter-laboratoire des données transrégionales. C'est pourquoi il nous paraît urgent d'établir la corrélation entre les différentes méthodes de dosage existantes.

## Sujet de thèse

L'objectif général de GLOBALCIG est d'étudier dans quelle mesure certains des effets du changement global tels que le réchauffement des eaux, l'acidification des océans et les phénomènes d'eutrophisation qui menacent actuellement les écosystèmes lagunaires, peuvent conduire (ou non) à un risque accru de ciguatéra. GLOBALCIG fournira également l'occasion de comparer 3 méthodes de dosage des CTXs entre elles

Les objectifs spécifiques de GLOBALCIG sont :

- d'étudier en conditions *in vitro* l'influence de divers paramètres physico-chimiques tels que la température, le pH et la disponibilité en nutriments (les 3 variables forçantes les plus représentatives du changement global) sur la croissance et la production en CTXs chez les espèces de *Gambierdiscus* signalées en Polynésie. Le potentiel toxique observé entre plusieurs clones de *G. polynesiensis* isolés de différents archipels en Polynésie sera également comparé pour vérifier l'existence d'une variabilité intra-spécifique chez cette espèce ;
- caractériser et évaluer la variabilité du profil toxinique chez l'espèce *G. polynesiensis* dans les conditions éco-physiologiques induisant des niveaux de production en toxines les plus contrastés, via l'inventaire qualitatif et quantitatif des CTXs algales présentes dans les cultures de *G. polynesiensis* ;
- comparer trois méthodes analytiques applicables à la détection et la quantification des CTXs dans les programmes de surveillance du risque ciguatérique, i.e. les tests CBA-N2a, RBA fluorescent (=RBA) et LC-MS/MS.

## Bibliographie

1. Chinain M, *et al.* 2014. Ciguatéra : aspects écologiques, biologiques et toxicologiques. *Revue Francophone des Laboratoires* **460** : 27-39.
2. Tester PA, *et al.* 2010. Ciguatera fish poisoning and sea surface temperatures in the Caribbean Sea and the West Indies. *Toxicon*, **56**(5): 698-710.
3. Jeong HJ, *et al.* 2012. First report of the epiphytic dinoflagellate *Gambierdiscus caribaeus* in the temperate waters off Jeju Island, Korea: morphology and molecular characterization. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **59**: 637–650.
4. Fraga S, Rodriguez F. 2014. Genus *Gambierdiscus* in the Canary Islands (NE Atlantic Ocean) with Description of *Gambierdiscus silvae* sp. nov., a New Potentially Toxic Epiphytic Benthic dinoflagellate. *Protist* **165**: 839-853.

5. Kibler SR, *et al.* 2015. Effects of ocean warming on growth and distribution of dinoflagellates associated with ciguatera fish poisoning in the Caribbean. *Ecological Modelling*, **316**: 194-210.
6. Boada LD, *et al.* 2010. Ciguatera fish poisoning on the West Africa coast: an emerging risk in the Canary Islands (Spain). *Toxicon*, **56**: 1516-1519.
7. Mattei C, *et al.* 2014. Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries. *Toxicon*, **91**:76-83.
8. Fraga S, *et al.* 2016. *Gambierdiscus balechii* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic dinoflagellate from the Celebes Sea (SW Pacific Ocean). *Harmful Algae*, **58**: 93–105.
9. Rhodes L, *et al.* 2017. A new species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae) from the south-west Pacific : *Gambierdiscus honu* sp. nov. *Harmful Algae*, **65**: 61-70.
10. Kibler SR, *et al.* 2012. Growth of eight *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species: effects of temperature, salinity and irradiance. *Harmful Algae*, **19**: 1-14.
11. Yoshimatsu T, *et al.* 2014. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of Japanese *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, **35**: 29-37.
12. Xu Y, *et al.* 2016. Influence of environmental variables on *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) growth and distribution. *PLoS ONE* **11(4)**:e0153197, doi : 10.1371/journal.pone.0153197.
13. Tawong W, *et al.* 2016. Temperature and salinity effects and toxicity of *Gambierdiscus caribaeus* (Dinophyceae) from Thailand. *Phycologia*, **55**: 274-278.
14. Chinain M, *et al.* 2010. Growth and toxin production in the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus polynesiensis* (Dinophyceae) in culture. *Toxicon*, **56**: 739-750.
15. Sperr AE, Doucette GJ. 1996. Variation in growth rate and ciguatera toxin production among geographically distinct isolates of *Gambierdiscus toxicus*. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (Eds.), Harmful and Toxic Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission, pp. 309-312.
16. Chinain M, *et al.* 1999. Morphology and molecular analyses of three toxic species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae): *G. pacificus*, sp. nov., *G. australes*, sp. nov. and *G. polynesiensis*, sp. nov. *J. Phycol.* **35**, 1282-1296.
17. Lartigue J, *et al.* 2009. Nitrogen source effects on the growth and toxicity of two strains of the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *Harmful Algae*, **8**: 781-791.
18. Pottier I, *et al.* 2002. Characterisation of multiple Caribbean ciguatoxins and congeners in individual specimens of horse-eye jack (*Caranx latus*) by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Toxicon*, **40**: 929-939.
19. Yasumoto T. 2005. Chemistry, etiology, and food chain dynamics of marine toxins. *Proc Jpn Acad B*, **81(2)**: 43-51.
20. Caillaud A, *et al.* 2010. Update on methodologies available for ciguatoxin determination. Perspectives to confront the onset of Ciguatera Fish Poisoning in Europe. *Marine Drugs*, **8(6)**: 1838-1907.
21. Argyle PA, *et al.* 2016. Toxicity assessment of New Zealand and Pacific dinoflagellates *Ostreopsis* and *Gambierdiscus* (Dinophyceae) extracts using bioassays. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, **50**: doi: 10.1080/00288330.2016.1159581.
22. Hardison DR, *et al.* 2016. Fluorescent Receptor Binding Assay for detecting ciguatoxins in fish. *PLoS ONE*, **11(4)**: e0153348, doi:10.1371/journal.pone.0153348.
23. Lewis RJ *et al.* 2016. Rapid extraction and identification of maitotoxin and ciguatoxin-like toxins from Caribbean and Pacific *Gambierdiscus* using a new functional bioassay. *PLoS ONE* **11(7)**: e0160006. doi:10.1371/journal.pone.0160006.

## Profil du candidat/compétences

- Expérience dans le domaine des cultures d'algues
- Expérience dans le domaine de la toxicologie sur modèles cellulaires
- Connaissances en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
- Connaissances en biostatistiques
- Autonomie, esprit d'initiative
- Aptitude au travail en équipe
- Bonne organisation, rigueur, esprit critique
- Capacité rédactionnelle et de synthèse

## Pour postuler

Adresser les candidatures (lettre de motivation + CV + notes M2) par courriel à : [mchinain@ilm.pf](mailto:mchinain@ilm.pf) et [philipp.hess@ifremer.fr](mailto:philipp.hess@ifremer.fr)

Date limite de dépôt des dossiers : 15 juillet 2017 (pour une audition des 3 candidats les mieux classés prévue pour la première quinzaine d'août).