Programme de la 11^{ème} journée des doctorants

11-12 juillet 2023

11 juillet

14h - 14h20	Accueil des participants
14h20 - 14h30	Introduction de la 11 ^{ème} journée des doctorants
14h30 - 14h55	A GABA receptor modulator and semiochemical compounds evidenced using volatolomics as candidate markers of chronic exposure to fipronil in <i>Apis mellifera</i> - Vincent Fernandes
14h55 - 15h10	Rôle des ressources nutritionnelles mineures dans la décomposition des litières des ruisseaux de moyenne montagne soumis à des régimes thermiques fluctuants - Marine Escura
15h10 - 15h35	Both transcriptomic response and gut microbiota composition of <i>Nosema ceranae</i> -infected honeybees differ between laboratory and semi-field conditions - Thania Sbaghdi
15h35 – 16h	Pause Café
16h - 16h25	Assessing the effects of plastics contamination on the structure and functions of stream microbial communities - Lucie Laffet
16h25 - 16h40	Le phytoplancton dans un contexte de réchauffement climatique - Pierre-Louis Lalloué
16h40 – 17h05	La bioaugmentation préventive des sols agricoles : un concept d'utilisation plus « durable » des pesticides pour réduire les contaminations environnementales - Roxane Dhommée

12 juillet

- 9h00 – 9h20** Accueil des participants
- 9h20 - 9h45** Prophages transposables chez les Leptospires : Un groupe de phages diversifié, prédominant chez les agents responsables de la maladie de Weil - **Eric Olo Ndela**
- 9h45 - 10h00** Impact du réchauffement climatique sur les performances du zooplancton dans un contexte de variance thermique et nutritive - **Nathan Frizot**
- 10h00 - 10h15** Immunobiologie des microsporidies *Encephalitozoon cuniculi* et *Encephalitozoon intestinalis* : étude du piratage du système immunitaire de l'hôte dans des modèles d'imagerie dynamique - **Eugénie Carrière**
- 10h15 - 10h45** **Pause Café**
- 10h45 - 11h45** Conférence plénière « Cellules, surfaces et sels : un voyage à l'extrême » - **Dr Adrienne Kish** – Muséum National d'Histoire Naturelle - Paris
- 11h45 – 11h50** Mot de la fin
- 12h** **Repas du laboratoire**

A GABA receptor modulator and semiochemical compounds evidenced using volatolomics as candidate markers of chronic exposure to fipronil in *Apis mellifera*

Vincent FERNANDES

Equipe CMES,

Directeur/trice de thèse : Isabelle BATAISSON et Philippe BOUCHARD,

3^{ème} année

Keywords: volatolomics; volatile organic compounds; pesticide; GABA modulator; honeybee

Among the various “omics” approaches that can be used in toxicology, volatolomics is in full development. A volatolomic study was carried out on soil bacteria to validate the proof of concept, and this approach was implemented in a new model organism: the honeybee *Apis mellifera*. Emerging bees raised in the laboratory in pain-type cages were used. Volatolomics analysis was performed on cuticles, fat bodies, and adhering tissues (abdomens without the digestive tract), after 14 and 21 days of chronic exposure to 0.5 and 1 µg/L of fipronil, corresponding to sublethal doses. The VOCs analysis was processed using an HS-SPME/GC-MS method. A total of 281 features were extracted and tentatively identified. No significant effect of fipronil on the volatolome could be observed after 14 days of chronic exposure. Mainly after 21 days of exposure, a volatolome deviation appeared. The study of this deviation highlighted 11 VOCs whose signal abundances evolved during the experiment. Interestingly, the volatolomics approach revealed a VOC (2,6-dimethylcyclohexanol) that could act on GABA receptor activity (the fipronil target) and VOCs associated with semiochemical activities (pheromones, repellent agents, and compounds related to the Nasonov gland) leading to a potential impact on bee behavior.

Rôle des ressources nutritionnelles mineures dans la décomposition des litières des ruisseaux de moyenne montagne soumis à des régimes thermiques fluctuants

Marine ESCURA

Équipe IRTA,

Directeurs de thèse : DESVILLETES Christian et KOUSSOROPLIS Apostolos

1^{ère} année

Mots clés : Cours d'eau, Macroinvertébrés, Température, Qualité Nutritionnelle, Variance thermique

Dans les ruisseaux de tête de bassin, la production secondaire dépend des apports de litières de feuilles à faible qualité nutritionnelle et des microalgues épilithiques à développement fluctuant. Les macroinvertébrés de ces milieux subissent des contraintes liées à des fluctuations de température de plus en plus importantes. Ces variations thermiques interagissent avec les contraintes nutritionnelles auxquelles ces macroinvertébrés sont confrontés. Pour chaque organisme, les fluctuations thermiques modifient le taux métabolique. Dans les cas d'élévation des taux métaboliques, des apports accrus en nourriture sont nécessaires et les besoins nutritionnels en composés lipidiques essentiels augmentent. Or, ces lipides essentiels sont majoritairement apportés par les microalgues qui demeurent rares en hiver et au début du printemps, période clé pour le développement des macroinvertébrés. Il est donc nécessaire de savoir si d'autres sources de nourriture comme les bryophytes et les macroalgues (Rhodophytes et Chrysophytes) sont utilisables dans ce contexte de contraintes thermiques. Il s'agira ainsi d'évaluer si ces ressources sont sélectionnées par les macroinvertébrés et si leur qualité nutritionnelle a un réel effet positif sur leurs traits de vie (croissance, taux d'ingestion des litières de feuilles et taux métabolique).

Both transcriptomic response and gut microbiota composition of *Nosema ceranae*-infected honeybees differ between laboratory and semi-field conditions

Thania SBAGHDI

Equipe IHP

Directeurs de thèse : Frédéric Delbac & Nicolas Blot

3^{ème} année

Keywords: Honeybees, *N. ceranae*, gut microbiota, transcriptomic, probiotic

The intestinal parasite *Nosema ceranae* causes honeybee nosemosis. Unfortunately, fumagillin, the only effective treatment, is currently banned in many countries. Because of the significant economic losses in the beekeeping industry, feed additives are being tested as alternatives, and probiotics are seen as a promising solution.

To determine whether a putative probiotic affects both gut microbiota and transcriptomic responses of the infected honeybees, we simultaneously monitored honeybees from the same hives under laboratory and semi-field conditions.

We performed whole shotgun metagenomics sequencing of the microbiota sixteen days after infection to analyse the impact of the infection and probiotic supplement on bacterial communities and to identify markers related to the infection and/or housing conditions. We also used RNA sequencing to look for significant changes in gut gene expression.

Surprisingly, at least 5 bacterial species were overrepresented in cages compared to the hives regardless of the treatments applied. Among them *Apilactobacillus kunkeei* and *Fructobacillus fructosus*, two beneficial lactic acid bacteria are only present in honeybees reared in pain cages with a considerable relative abundance of about 5%.

According to RNAseq analysis, infected honeybees in pain cages have 155 down-regulated and 120 up-regulated genes, whereas bees in hives have 182 down-regulated and only 86 up-regulated. The addition of probiotics had no effect on gene expression in either the cage or the hive.

Our findings highlight the importance of using a representative model to investigate both microbiota and transcriptomic responses of bees to various products intended for use in natural settings.

Assessing the effects of plastics contamination on the structure and functions of stream microbial communities

Lucie LAFFET

Equipe BioADAPT

Directeur/trice de thèse : Anna Romani, Joan Artigas

3^{ème} année

Keywords: plastic pollution; extracellular enzymatic activities; stream microcosms; microbial communities

Plastic pollution is present in all ecosystems including freshwaters; rivers are considered as hotspot of plastic pollution. In this study we explored the impact of two types of plastics (non-biodegradable and biodegradable; each covering 60 % of benthic surface area), on the functioning and biomass of natural benthic microbial communities (sediments, rocks and leaves) in streams. We measured enzymatic activities (β -D-glucosidase: GLU; N-acetylglucosaminidase: NAG; phosphatase: PHO) and bacterial, fungal densities and algal biomass in each substratum to determine the impact of plastics addition to both the substratum scale and the microcosm scale.

The results at the substratum scale showed that the addition of non-biodegradable plastic increased GLU activity, GLU:NAG and GLU:PHO enzyme activity ratios, while the addition of biodegradable plastic reduced fungal density in rock microbial communities. No effect of plastics addition was observed in microbial descriptors measured in sediments and leaves communities. At the microcosm scale, the biodegradable plastic decreased GLU and NAG activities whereas the non-biodegradable plastic decreased NAG and PHO activities. Both plastics decreased fungal density and algal biomass and tended to increase glucose uptake. Surprisingly, the effects of plastics are overridden by the addition of leaves.

This study highlights the contrasting effect of plastics between the substratum scale and the microcosm scale because most of the effects were detected in the latter. When replacing 60 % of natural substrata benthic surface (sediments or rocks) by plastics, there is a decrease in dissolved organic carbon, nitrogen and phosphorus acquisition probably explained by the lower fungal and algal biomass colonisation in plastics. Indeed, upscaling microbial activities and biomasses at the microcosm scale (*i. e.* considering the benthic surface area occupied by the different substrata) allows a vision closer to that of natural microbial benthos structure and functioning.

Le phytoplancton dans un contexte de réchauffement climatique

Pierre-Louis LALLOUE

Equipe IRTA

Directrices de thèse : Latour Delphine et Mallet Clarisse

1^{ère} année

Mots-clés : Phytoplancton, changement climatique, Température, Taux de croissance

Le phytoplancton constitue la base du réseau trophique lacustre en tant que principale ressource nutritionnelle pour les niveaux trophiques supérieurs (i.e. le zooplancton). De plus, il participe à plus de la moitié de la production primaire mondiale, jouant ainsi un rôle essentiel dans le cycle du carbone (Behrenfeld et al., 2001). En tant qu'ectothermes, les taux de croissance du phytoplancton sont fortement liés à la température (Grimaud, 2016). Il existe également une grande variabilité interspécifique des niches thermiques, impliquant des changements de dominance selon un gradient thermique (Baker et Geider, 2021). Ainsi, l'augmentation des températures moyennes dans un contexte de changement climatique (Woolway et al., 2020) pourrait impacter à la fois sur la productivité du phytoplancton et la composition de la communauté, entraînant des perturbations de l'ensemble de l'écosystème lacustre. En effet, des températures plus élevées peuvent favoriser la dominance des cyanobactéries sur le reste du phytoplancton conduisant à une augmentation de la fréquence des blooms, menaçant tous les niveaux du réseau trophique (Paerl et Huisman, 2008). De par leur manque de lipides essentiels, les cyanobactéries sont considérées comme ayant une faible qualité nutritionnelle pour le zooplancton (Martin-Creuzburg et al., 2008). A l'échelle de l'espèce, l'élévation des températures pourrait également induire des changements de la composition lipidique ou de la stœchiométrie du phytoplancton et donc impacter leur qualité nutritionnelle (Hixson et Arts, 2016 ; Woods et al., 2003). Toutes ces modifications pourraient limiter le transfert d'énergie à l'interface producteur/consommateur et donc réduire l'énergie disponible pour les composants supérieurs du réseau trophique.

La première partie de ma thèse se concentre sur l'impact de températures constantes sur des cultures monospécifiques de phytoplancton afin de modéliser les effets de la température sur la compétition entre les souches phytoplanctoniques et d'obtenir une meilleure compréhension de son implication sur la qualité nutritionnelle au niveau de l'espèce et de la communauté.

La bioaugmentation préventive des sols agricoles : un concept d'utilisation plus « durable » des pesticides pour réduire les contaminations environnementales

Roxane DHOMMEE

Equipe CMES

Directrices de thèse : Pascale Besse-Hoggan, Isabelle Batisson.

3^{ème} année

Mots clés : Bioremédiation, Herbicide, Sulfonylurée, Nicosulfuron, 2,4-D

L'application de pesticides sur les grandes cultures, pratique actuellement presque inévitable pour soutenir des rendements élevés, a entraîné une contamination quasi-systématique de tous les écosystèmes. Pour la limiter, une méthode préventive de bioaugmentation, consistant à épandre simultanément un pesticide et un microorganisme capable de le dégrader, a été validée sur un sol agricole, en utilisant une formulation commerciale (DAM) de l'herbicide 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) à dose agronomique et une culture fraîche de la bactérie *Cupriavidus necator*, comme modèles, en conditions contrôlées de laboratoire¹.

Nous avons testé cette approche sur différents sols agricoles et avec une formulation galénique de *C. necator* utilisable par les agriculteurs, en conditions contrôlées mais aussi en extérieur. Toutes les expériences ont montré une réduction de la persistance du 2,4-D dans le sol et les lixiviats sans perte d'effet herbicide, ce qui confirme que notre approche pourrait être applicable à un contexte agricole pour limiter la diffusion des pesticides dans l'environnement.

Le concept a été élargi à un autre herbicide, le nicosulfuron (sulfonylurée la plus utilisée en France) et à ses principaux métabolites (N,N-diméthyl-2-sulfamoylpyridine-3-carboxamide (ASDM) et 4,6-diméthoxypyrimidine-2-amine (ADMP)), régulièrement retrouvés dans les eaux. La recherche de souches dégradant le nicosulfuron, l'ASDM et l'ADMP a conduit à l'isolement de 5 souches microbiennes dégradant le nicosulfuron, dont une, *Geotrichum candidum*, présente aussi la capacité à dégrader l'ASDM. Cette souche est actuellement utilisée en bioaugmentation préventive sur un sol agricole simultanément à l'épandage de nicosulfuron ou d'ASDM.

¹ Carles, L. *et al.* (2021) *J. Hazard. Mater.*, 416, 125740.

Prophages transposables chez les Leptospires : Un groupe de phages diversifié, prédominant chez les agents responsables de la maladie de Weil

Eric OLO NDELA

Équipe BioAdapt

Directeurs de thèse : ENAULT François & SIME-NGANDO Télésphore

3^{ème} année

Mots clés : Leptospires, phages transposables, bioinformatique.

En 1886, Adolf Weil a signalé pour la première fois une "maladie infectieuse aiguë avec hypertrophie de la rate, jaunisse et néphrite", aujourd'hui connue sous le nom de leptospirose. Au début du 20^e siècle, l'agent responsable de l'infection a été identifié : il s'agit des bactéries du genre *Leptospira*, en forme de tire-bouchon. Des travaux récents de l'Institut Pasteur ont montré que les Leptospires pathogènes présentent un génome plus flexible, avec un pangénome ouvert avec un plus grand nombre de gènes accessoires et présentant des signatures de transfert horizontal de gènes comme les transposases. Ariane Toussaint, arrière-petite fille d'Adolf Weil, a consacré plus de 30 ans de sa carrière de chercheur aux éléments génétiques mobiles et notamment aux phages transposables. Consciente de la présence de transposases chez les Leptospires pathogènes, Ariane s'est intéressée de plus près aux génomes des Leptospires à la recherche de prophages transposables. En criblant le génome de *L. weilii* CUDO6 avec des protéines caractéristiques des phages transposables Mu et B3, une protéine similaire à la transposase a été trouvée à la fois sur le chromosome et sur le plasmide. Un alignement entre ces deux régions a montré des séquences identiques de 39,069 Kb, correspondant au premier prophage transposable découvert ici. Ariane Toussaint nous a contactés avec ces résultats intéressants, à partir desquels nous avons décidé d'effectuer une recherche et une analyse complètes des prophages transposables dans la famille des *Leptospiraceae*. Dans notre étude, nous décrivons un total 236 prophages transposables enrichis dans les souches pathogènes. Nous présenterons ici l'analyse phylogénétique ainsi que l'organisation des génomes de ces prophages, avec pour objectifs la classification de ces phages et la compréhension de leur impact sur la pathogénicité des Leptospires.

Impact du réchauffement climatique sur les performances du zooplancton dans un contexte de variance thermique et nutritive

Nathan FRIZOT

Equipe IRTA

Directeurs de thèse : Alexandre BEC et Apostolos-Manuel KOUSSOROPLIS

1^{ère} année

Mots clés : Ecosystèmes aquatiques, température, qualité et quantité nutritionnelles, métabolisme

La nutrition et la température sont les principaux déterminants de la performance des organismes ectothermes. Dans un contexte de réchauffement climatique, l'interaction entre ces deux facteurs peut exacerber les contraintes sur la croissance des consommateurs aquatiques et ainsi diminuer la productivité des systèmes aquatiques beaucoup plus qu'on ne le prévoit aujourd'hui. Dans les systèmes aquatiques, les températures moyennes plus élevées augmenteront directement ou indirectement les contraintes liées à la quantité mais également à la qualité nutritionnelle s'exerçant sur consommateurs qui devront en outre faire face en même temps à une variabilité thermique journalière plus élevée et à des périodes de chaleur plus intenses et plus longues. Comme les rendements des transferts trophiques à l'interface microbe-métazoaire déterminent la structure et la production des écosystèmes aquatiques, notre projet se focalisera sur celle-ci afin d'évaluer comment la température et la variance thermique affecteront la performance des consommateurs soumis à divers contextes nutritionnels (qualitatifs et quantitatifs). Notre projet vise à établir un cadre théorique permettant de prédire les performances des consommateurs dans un contexte de variance thermique et de températures extrêmes.

Immunobiologie des microsporidies *Encephalitozoon cuniculi* et *Encephalitozoon intestinalis* : étude du piratage du système immunitaire de l'hôte dans des modèles d'imagerie dynamique

Eugénie CARRIERE

Équipe IHP

Directrice de thèse : Gueirard Pascale

1^{ère} année

Mots clefs : Microsporidia, *Encephalitozoon cuniculi*, réponse immunitaire innée, modèle murin, imagerie intravitale.

Les microsporidies sont des parasites intracellulaires obligatoires apparentés aux champignons provoquant des infections graves chez les personnes immunodéprimées. *Encephalitozoon cuniculi* est une espèce de microsporidie capable d'infecter les mammifères, dont les humains et les rongeurs. En réponse à une infection microsporidienne, le système immunitaire inné sert de première ligne de défense permettant une élimination partielle du parasite via des cellules immunitaires innées, comprenant les macrophages, les neutrophiles, les cellules dendritiques, les cellules NK. Selon la littérature, les microsporidies contournent cette réponse *in vitro* en modulant la réponse des macrophages. Afin d'étudier les interactions hôte-parasite *in vivo*, nous avons développé un modèle utilisant le pavillon de l'oreille de la souris combiné à une approche d'imagerie intravitale. Des spores fluorescentes d'*E. cuniculi* ont été inoculées dans le tissu cutané afin de suivre pour la première fois en temps réel dans un modèle *in vivo* la dynamique de recrutement des cellules phagocytaires EGFP + en réponse au parasite. Les résultats montrent que les parasites induisent un recrutement inflammatoire important des phagocytes, avec des altérations de leurs propriétés de motilité (vitesse, longueur de déplacement, rectitude). Cette réponse cellulaire persiste dans la zone d'injection, avec des spores détectées à l'intérieur des phagocytes jusqu'à 72 h après l'infection. Des immunomarquages réalisés sur des cryosections de tissus auriculaires évoquent la présence de foyers infectieux en développement dès 5 jours post-infection, en faveur d'une prolifération du parasite dans ce tissu. Dans l'ensemble, le nouveau modèle du pavillon de l'oreille de souris nous permettra de mieux comprendre l'immunobiologie des microsporidies, notamment, de savoir comment elles peuvent contourner et détourner le système immunitaire d'un hôte immunocompétent/immunodéprimé.