

# Effet du changement climatique sur le mucus des anguilles : conséquences sur la conservation d'une espèce en danger (CliMA)

**Directeur : Nathalie Tapissier (CRIOBE) Co-encadrante : Elisabeth Faliex (CEFREM)**  
**Laboratoire d'accueil : USR 3278 CRIOBE (UPVD et Moorea)**

**Contexte et problématique :** La peau des poissons n'est pas kératinisée et est exclusivement composée de cellules vivantes. Par conséquent, celle-ci est directement et continuellement exposée à l'eau, et constitue donc une frontière importante de défense contre les attaques provenant de l'environnement direct des poissons (figure 1). Elle est recouverte de mucus qui est sécrété par des cellules de l'épiderme et contient de nombreuses molécules de défense (Salinas, 2015 ; Reverter et al. 2017). Ce mucus est une couche dynamique qui joue un rôle majeur dans des fonctions physiologiques telles que l'osmorégulation, la protection contre les infections mais aussi dans la communication inter et intra spécifique. Il paraît donc évident que des modifications de cette surface, liées à des changements environnementaux (changements globaux, contaminations biotiques, pollutions chimiques,...) pourraient avoir des conséquences majeures sur la survie des espèces.

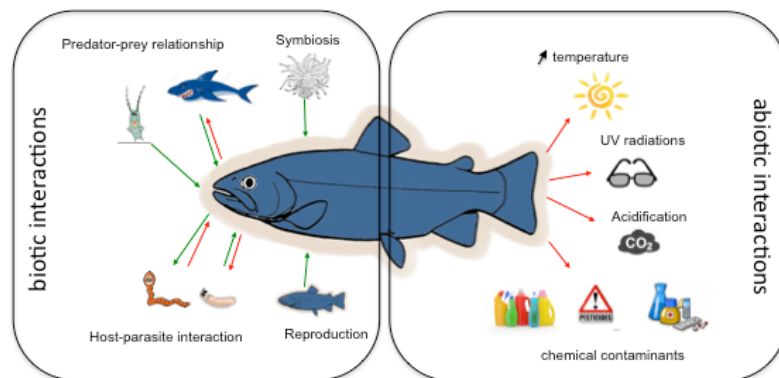


Figure 1 : rôle du mucus dans les relations poisson/environnement

Les anguilles sont des poissons amphidromes connus pour avoir un mucus abondant qui pourrait être d'un grand intérêt pour leur capacité d'adaptation à des changements de l'environnement. Par exemple, son rôle dans la défense contre les agents pathogènes a été mis en évidence par la présence, chez l'anguille japonaise, de peptides antimicrobiens (Liang et al, 2011 ; Zhang et al, 2013). Cependant à ce jour, aucune étude n'a été menée sur les potentielles capacités d'adaptation des anguilles vis-à-vis de stress combinés dus à des modifications de l'environnement (réchauffement climatique et contaminations biotiques par exemple) via la composition de leur mucus.

**Objectifs :** Le réchauffement climatique constitue un des facteurs prépondérants du changement global. Nous proposons au cours de cette thèse d'étudier l'interrelation entre ce facteur (hausse de température) et des contaminants biotiques (parasites, et agents

pathogènes), sur la composition du mucus de deux espèces d'anguilles : une espèce de climat tempéré (l'anguille européenne, *Anguilla anguilla*), en danger d'extinction (inscrite sur la liste rouge mondiale de l'UICN, 2014), et une espèce de climat tropical (l'anguille obscure, *Anguilla obscura*) présente en Polynésie, et dont l'inscription sur la liste rouge mondiale de l'UICN dépend d'un apport de données aujourd'hui insuffisantes.

Pour cela, nous souhaitons comparer l'impact du changement climatique sur le mucus chez ces deux espèces ainsi que l'impact de l'élévation de température sur leur sensibilité à l'infestation parasitaire. Notre hypothèse de base est que l'espèce tropicale sera plus à même de s'adapter aux élévations de température que l'espèce de milieu tempéré.

**Méthodologie :** L'étude se fera en deux parties, une partie en milieu naturel et une partie en conditions expérimentales où seront modifiés les paramètres température et contaminants biotiques.

Dans un premier temps, un travail d'exploration de terrain consistera i) à collecter des anguilles dans leur milieu naturel ii) à caractériser les communautés de parasites au niveau des branchies et de la vessie gazeuse et iii) à prélever du mucus branchial, épithélial et intestinal, les extraire par extraction biphasique (polaire et apolaire) pour enregistrer leurs empreintes chimiques respectives en UHPLC/HRMS et caractériser les métabolites présents.

Dans un deuxième temps, un dispositif expérimental sera réalisé à partir de civelles exemptes de parasites élevées au laboratoire. Elles seront ensuite introduites dans des aquariums thermostatés à différentes températures. Après un temps d'acclimatation, des prélèvements de mucus seront effectués pour évaluer l'effet de la température associée ou non à des contaminations biotiques expérimentales (*Anguillicola crassus*, nématode parasite de la vessie gazeuse) sur le métabolome. Le CRIOBE dispose pour cela de structures expérimentales aussi bien en milieu tempéré, dans une animalerie sur le site de l'Université de Perpignan, qu'en milieu tropical avec la station d'écologie expérimentale de Moorea en Polynésie française. L'état physiologique des individus soumis aux différentes conditions expérimentales sera évalué par deux techniques complémentaires:

- le profilage métabolique du mucus de la peau, des branchies et de l'intestin (figure 2). Une approche non-ciblée permettra une vision globale des modifications métaboliques provoquées par ces facteurs biotiques et abiotiques. Parallèlement, une approche ciblée sur la production de molécules de défense (peptides antimicrobiens par exemple) par les poissons sera réalisée pour comprendre l'impact de l'élévation de température sur la réponse des deux espèces aux infections parasitaires. Les prélèvements de mucus lyophilisés pour les analyses chimiques seront extraits et analysés sur la plateforme Bio2Mar du CRIOBE de Perpignan.

- la détermination de l'état d'infestation des anguilles infestées expérimentalement. Cet état d'infestation sera réalisé a posteriori après dissection à la loupe binoculaire des organes cibles des parasites, à savoir : la vessie gazeuse pour *A. Crassus*, la peau et les branchies pour *P. anguillae* et *P. bini*. Un dénombrement de chaque espèce de parasite sera entrepris. Ce travail permettra de valider le succès des infestations expérimentales et d'obtenir précisément le niveau d'infestation de chaque individu.

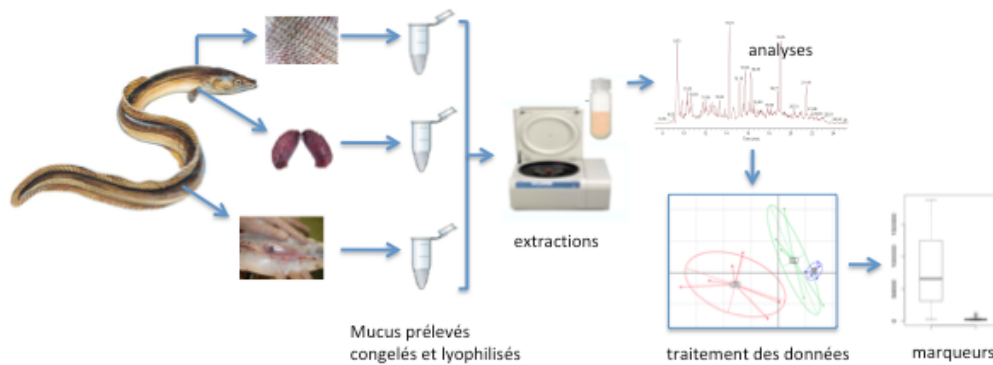


Figure 2 : schéma du « workflow » des analyses métabolomiques.

Une vision plus globale de la variabilité du mucus est également envisagée par le biais de collaborations qui permettront d'intégrer des données complémentaires sur les échantillons de mucus prélevés lors de la thèse :

- analyse de la communauté bactérienne associée au mucus (Reverter et al. 2017) en collaboration avec le Pr. Marcelino Suzuki, microbiologiste au LBBM de l'Observatoire Océanologique de Banyuls/Mer.
- suivi de l'expression de molécules de défense telles que immunoglobulines, cytokines, protéines du complément, lysozyme, protéases, lectines (Tsutsui et al. 2016) en collaboration avec le Dr. Bruno Lapeyre, biologiste moléculaire au CRIOBE.

**Résultats attendus :** La synthèse des résultats devrait i) permettre de savoir quelles sont les relations entre succès de l'infestation parasitaire et température dans un contexte de changement climatique ii) conduire à la mise en évidence de métabolites marqueurs de l'impact de ces deux perturbations biotiques et abiotiques iii) permettre d'évaluer l'interrelation entre ces deux facteurs iv) apporter des données inédites sur l'anguille tropicale nécessaires pour statuer sur son inscription sur la liste rouge mondiale de l'UICN.

A une échelle plus large, notre étude permettra de comparer les conséquences du changement global sur deux espèces avec des histoires de vie différentes et d'appréhender ces conséquences sur leur distribution.

### Références bibliographiques :

- Liang, Ying; Guan, Ruizhang; Huang, Wenshu, Isolation and Identification of a Novel Inducible Antibacterial Peptide from the Skin mucus of Japanese eel, *Anguilla japonica*. Protein J., 6, (2011), 413-421.
- Reverter, M., Sasal, P., Banaigs, B., Lecchini, D., Lecellier, G., Tapissier-Bontemps, N. Fish mucus metabolomics reveals fish life history traits. Coral Reefs, (2017) 1-13. DOI 10.1007/s00338-017-1554-0.
- Reverter, M., Sasal, P., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., Suzuki, M. Characterisation of the gill mucus microbiome of four butterflyfish species: a reservoir of bacterial diversity in coral reefs. FEMS Microbiology Ecology, 2017, Jun 1;93(6).
- Salinas I. The Mucosal Immune System of Teleost. Fish. Biol.,4(2015): 525–539.
- Tsutsui, Shigeyuki; Yoshinaga, Tatsuki; Komiya, Kaoru. Differential expression of skin mucus C-type lectin in two freshwater eel species, *Anguilla marmorata* and *Anguilla japonica*. Developmental and Comparative Immunology.,61(2016), 154-160.
- Zhang D.L., Guan R. Z., Huang W.S., Xiong J., Isolation and characterization of a novel antibacterial peptide derived from hemoglobin alpha in the liver of Japanese eel, *Anguilla japonica* Fish & Shellfish Immunology, 35 (2013) 625-631.