

UMR 7144 UPMC – CNRS

Adaptation et Diversité en Milieu Marin AD2M

Demande de renouvellement



**Université Pierre et Marie Curie
&
CNRS EDD**

~~Bilan 2004-2007~~ et Projet 2009-2012

Porteur du projet : François LALLIER

Station Biologique – BP 74 – 29682 Roscoff cedex
Tel : 02-98-29-23-11 Fax : 02-98-29-23-24 Email : lallier@sb-roscoff.fr

UMR 7144
ADAPTATION ET DIVERSITE EN MILIEU MARIN

PROJET
2009-2012

Adaptation et Diversité en Milieu Marin

Projet 2009-2012

Renouvellement

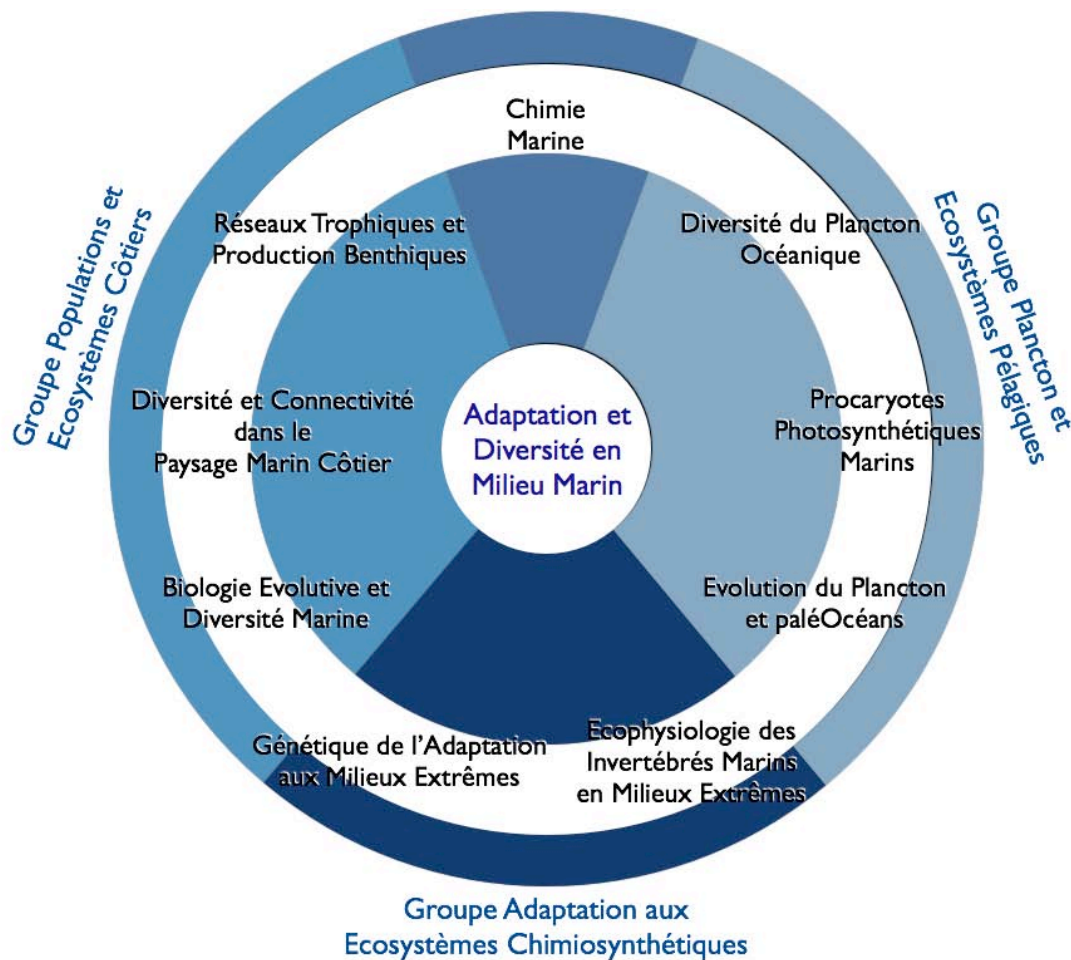
Les problématiques scientifiques de l'UMR ne vont pas être fondamentalement modifiées au cours du prochain contrat quadriennal. La thématique générale de l'unité reste la biologie des organismes et des écosystèmes marins parce que ce milieu impose des contraintes tout à fait particulières et qu'il abrite sans nul doute la plus grande diversité d'organismes et de modes de vie. Les notions d'adaptation et de diversité, prises dans toutes leurs acceptations (cf. Bilan), trouvent amplement matière à applications dans la variété des écosystèmes marins et des organismes qui les peuplent. Le rattachement de l'unité et sa typologie restent donc inchangés:

- nous nous inscrivons parfaitement dans le Pôle de Recherche "Espace, Environnement & Ecologie" de l'Université Pierre et Marie Curie
- nous souhaitons demeurer rattachés prioritairement au Département "Environnement et Développement Durable" du CNRS, tout en conservant notre rattachement secondaire aux Départements "Sciences du Vivant" et "Planète et Univers".
- Sections du Conseil National des Universités: 31, 67, 68
- Sections du Comité National de la Recherche Scientifique: 29, 19 et 20

En dépit du large spectre d'intérêts des différents membres de l'unité et de notre développement important au cours des quatre dernières années, nous n'avons pas jugé utile de former deux unités. Néanmoins, certaines thématiques de recherche à l'interface des équipes actuelles sont arrivées à un niveau de maturité décisif qui nécessitait une évolution et une redéfinition des équipes de recherche. En réalité cette orientation a déjà été prise avec la redistribution des thématiques de l'équipe Plancton Océanique en trois équipes, et ce dès la mi-parcours de l'actuel contrat quadriennal.

En outre, nos réflexions sur le fonctionnement d'une équipe dans le contexte actuel de la recherche en France nous ont amené à privilégier des équipes resserrées, de 3 à 4 chercheurs. Plus dynamiques, plus focalisées, avec un sentiment d'implication et de responsabilité accrue de chacun des chercheurs, ces équipes pourront certainement mieux répondre aux appels d'offres émanant des multiples agences de financement qui permettent de soutenir nos recherches. En effet, aujourd'hui, un projet doit, pour se développer, s'insérer dans les grands axes définis parallèlement (mais pas forcément de façon coordonnée) au niveau territorial, national et international.

Mais, si ces équipes compactes sont plus réactives, un regroupement plus ou moins formel était également nécessaire pour favoriser les échanges à l'interface et partager les ressources les plus rares: quelques équipements, mais surtout locaux et aide technique. Nous n'avons pas souhaité ériger ces regroupements en Départements, afin de ne pas ajouter un niveau hiérarchique supplémentaire dont la complexité était ressentie par chacun comme une source de sclérose. Pour autant, la mise en commun de moyens logistiques, techniques ou humains sera fortement soutenue et encouragée par le Directeur de l'unité, et obtenue par la concertation et le consensus. Les regroupements se sont opérés tout naturellement en fonction des environnements de prédilection de chacune des équipes qui supposent des objets et des méthodes de travail communs.



Structuration

Les principes exposés ci-dessus se traduisent par une structuration de l'unité en neuf équipes de recherche pour un effectif global, doctorants compris, de 91 personnes en octobre 2007. En dehors de l'équipe Chimie Marine, singularisée du fait de sa spécificité thématique (non biologique sur l'essentiel, mais avec un fort ancrage biogéochimique), les différentes équipes de l'unité se sont regroupées en trois ensembles :

- Groupe Populations et Ecosystèmes Côtiers
- Groupe Plancton et Ecosystèmes Pélagiques
- Groupe Adaptation aux Ecosystèmes Chimiosynthétiques

Le développement du projet de chaque équipe est détaillé à la suite de cette présentation générale du projet de renouvellement de l'unité, mais on trouvera un aperçu des thématiques de chaque équipe ci-dessous.

Chimie Marine **responsable Pascal Morin.** **4 CNRS, 4 UBO**

Les thématiques actuelles seront poursuivies : biogéochimie de l'azote et devenir des éléments métalliques, avec un renforcement de l'étude des traceurs océaniques, et en particulier des gaz climatiquement actifs.

Cette équipe, qui comprend 4 enseignants chercheurs de l'UBO, est géographiquement implantée sur deux sites, la SBR à Roscoff et l'IUEM à Brest. Des discussions sont en cours pour clarifier la situation de cette équipe et de notre unité vis-à-vis de l'Université de Bretagne Occidentale.

Groupe Populations et Ecosystèmes Côtiers

3 équipes, 11 chercheurs

Biologie des populations et des peuplements, milieux benthiques côtiers et littoraux

Ce groupe s'appuie notamment sur le ReX MarBEF, les ANR Mirage et EcoKelp, le LIA DiAMS.

Réseaux Trophiques et Production Benthiques

responsable Dominique DAVOULT

3 UPMC, 1 CNRS

Etude du fonctionnement de l'écosystème littoral, avec une focalisation sur les substrats rocheux et sur les conséquences de l'anthropisation.

Diversité et Connectivité dans le Paysage Marin Côtier

responsable Frédérique Viard

2 UPMC, 2 CNRS

Dans le prolongement de l'ATIP Eco-Dive, cette équipe regroupe des chercheurs de EGPM et ECOB autour de la biologie des populations, en mettant l'accent sur les processus de dispersion entre les populations d'espèces autochtones ou introduites.

Biologie évolutive et diversité marine,

responsable Myriam Valero

1 UPMC, 2 CNRS

Centrée sur les macroalgues, modèles présentant une très grande diversité de mode de reproduction et de cycles de vie, cette équipe veut combiner approches expérimentales et modélisation théoriques pour cerner l'évolution de ces traits d'histoire de vie.

Groupe Plancton et Ecosystèmes Pélagiques

3 équipes, 9 chercheurs

Phylogénie, évolution, diversité, écologie et physiologie des microorganismes du plancton.

S'appuie sur RCC/Souchothèque, ReX MGE, PlanktoNet, les ANR BOOM, PhycoSyn et PicoFunPac

Diversité du Plancton Océanique,

responsable Daniel Vaultot

1 UPMC, 2 CNRS

Activité focalisée sur les picoeucaryotes dont la diversité est encore largement ignorée. Combine approches environnementales et culturelles pour aborder diversité et phylogénie, distribution et écologie.

Procaryotes Photosynthétiques Marins,

responsable Frédéric Partensky

1 UPMC, 3 CNRS

Génomique comparative et fonctionnelle des cyanobactéries marines, *Prochlorococcus* et *Synechococcus*; génomique environnementale des bactéries phototrophes anoxygéniques aérobies.

Evolution du Plancton et Paléocéans,

responsable Colomban de Vargas

2 CNRS

Biologie, écologie et évolution des unicellulaires pélagiques calcifiants, coccolithophores et foraminifères, y compris l'étude des interactions durables (virus, symbiose) en milieu pélagique.

Groupe Adaptation aux Ecosystèmes chimiosynthétiques

2 équipes, 8 chercheurs

Adaptation des organismes aux milieux extrêmes, en particulier le milieu hydrothermal profond, approches fonctionnelles et évolutives

S'appuie sur ANR Alvinella, GDR Ecchis, OGP Stress, ANR Deep Oases, CSA FP7 Carex

Ecophysiologie des Invertébrés marins en Milieux Extrêmes,

responsable Franck Zal

3 UPMC, 1 CNRS

Etude des relations structure-fonction des protéines respiratoires dans un contexte de biologie évolutive et intégrative, et approches globales (transcriptome, protéome) des adaptations au stress oxydatif et au mode de vie symbiotique.

Génétique de l'Adaptation aux Milieux Extrêmes,

responsable Didier Jollivet

2 UPMC, 2 CNRS

Où comment l'extrême instabilité et hétérogénéité des conditions du milieu hydrothermal (température, oxygène,...) influe sur la diversité génétique des espèces, le taux d'évolution des gènes et contribue ou non à favoriser la spéciation écologique.

Animation et fonctionnement

La vie du laboratoire continuera à s'articuler autour d'un Conseil Scientifique, réunissant l'ensemble des responsables d'équipe, et d'un Conseil de Laboratoire, regroupant membres élus et nommés représentant les différentes catégories de personnels. La circulation de l'information et l'intégration des deux conseils est opérée grâce à l'invitation des membres du Conseil de Laboratoire à assister aux délibérations du Conseil Scientifique.

Les actions d'animation spécifiques au laboratoire seront reconduites, avec notamment une journée thématique et une journée poster annuelles. Bien entendu, les membres de notre unité continueront à participer activement aux différentes animations proposées à l'échelle du site.

Implication au sein la Fédération de Recherche

Regroupant près de la moitié des effectifs présents sur le site de Roscoff, notre Unité occupe une place importante dans l'école interne / observatoire / fédération de recherche "Station Biologique de Roscoff".

Nos équipes s'appuient sur et participent au développement de l'ensemble des services communs de la Station Biologique de Roscoff, avec une mention particulière pour :

- le Service Mer & Observation. Forte utilisation de ce service pour l'échantillonnage et participation au développement de l'observation : SOMLIT (équipe Chimie Marine), suivi de la diversité pélagique (équipes du Groupe Plancton) et suivi de la diversité benthique, notamment avec le développement des applications SIG (équipes du groupe Populations et Ecosystèmes Côtiers).
- le Service Informatique et Génomique. Utilisation intensive des services de séquençage et de bioinformatique, à développer et renforcer.

Nous avons néanmoins le sentiment que les interactions Services / Equipes de Recherche devraient être renforcées, par exemple en développant des comités d'usagers, de façon à ce que les premiers répondent plus précisément aux besoins des seconds. Nous avons également constaté, et maintes fois signifié, un manque de communication et de concertation dans des décisions qui impliquent le développement et les conditions de travail des équipes de recherche en place à la Station Biologique de Roscoff.

Les membres du laboratoire continueront à contribuer activement au développement des programmes transversaux de la Station Biologique de Roscoff, en particulier par leur implication

dans l'implémentation du CPER (coordonné par la FR), le développement des réseaux régionaux (Europôle Mer, Ouest-Génopôle, ...) ou européens (ESTeam, I3, ...).

Insertion

Contexte territorial

La Station Biologique de Roscoff dans son ensemble, et notre unité en particulier, entretiennent de très bonnes relations avec la Région Bretagne et le Conseil Général du Finistère qui soutiennent activement nos recherches. Par exemple, c'est un membre du laboratoire (A. Tanguy) qui coordonne l'action transversale "Stress" de Ouest-Génopôle, et nous sommes représentés (F. Viard) au Conseil Scientifique de l'Environnement de Bretagne.

En particulier plusieurs membres de l'unité se sont impliqués dans le projet de RTRA (désormais un GIS) "Europôle Mer" qui devrait porter ses premiers fruits dès l'an prochain. Les différentes équipes de l'unité interviennent ou interviendront dans les quatre axes thématiques de recherche d'Europole Mer:

- Axe 1 – Génomique marine, biologie structurale et génétique
Equipes du groupe Plancton et Ecosystèmes pélagiques
- Axe 2 – Variabilité du Climat de l'Océan.
Equipe Chimie Marine
- Axe 3 – Compréhension et évolution du système côtier
Equipes du groupe Populations et Ecosystèmes Côtiers
- Axe 4 – Interactions géochimiques, géobiologiques et biodiversité des milieux extrêmes
Equipes du groupe Ecosystèmes Chimiosynthétiques Profonds

Par ailleurs, les projets ANR "EcoKelp", "Hemorgan" et "Deep Oases", ainsi que le projet ARED (doctorat D. Grulois) bénéficient du label "Pôle de Compétitivité Mer Bretagne".

Contexte national

Selon leur spécialité, la plupart des équipes participent à des programmes nationaux. Par exemple, trois projets sont en cours au sein de EC2CO et deux dans LEFE. Ces programmes, ou des groupements de recherche comme le GDR Ecchis, sont importants pour coordonner nos travaux avec ceux de nos collègues français.

Il faut rappeler ici le succès de nos projets auprès de l'ANR: actuellement douze programmes sont en cours, dont 8 coordonnés par un membre de l'UMR, pour un total de près de 3,5 M€. Pour la plupart, ces programmes reposent sur des collaborations nationales de plusieurs laboratoires.

Contexte international

Les équipes de l'Unité entretiennent un large réseau de collaborations, établies durant les FP5 et FP6 et notamment dans le cadre des Réseaux d'Excellence MARBEF et Marine Genomics Europe. Un certain nombre de projets issus de ces collaborations devraient déboucher prochainement sur des réponses aux appels d'offre du FP7. Quelques-uns sont déjà initiés et en cours d'expertise (EPOCA, CAREX, ...)

Comme il l'a été mentionné dans la partie bilan, le LIA DIAMS a été un véritable succès que ce soit en terme d'échanges, de formations, d'animations et de productions scientifiques. Un nouveau projet scientifique impliquant les équipes de Roscoff (Div&Co et BEDIM de l'UMR 7144 ainsi que les équipes Génomique des Algues et Défense des Algues de l'UMR 7139) et le CASEB de l'Université Pontificale Catholique du Chili est en cours de rédaction. L'élargissement du LIA vers de nouveaux partenaires est envisagé. L'objectif est de recentrer la collaboration sur quelques opérations de recherches qui nous sont apparues les plus remarquables (méta-analyse des données phylogéographiques, renforcement de la complémentarité des approches théoriques et expérimentales entre écologie et génétique des populations dans des zones ateliers qui sont maintenant bien identifiées et particulièrement remarquables pour analyser l'effet du changement climatique, développement d'une approche de biologie intégrative de la tolérance aux métaux

lourds alliant génomique et biologie des populations). Enfin, le LIA est partie prenante dans les projets de Master International France-Espagne-Chili et de l'école doctorale Franco-Chilienne.

Formation

Masters

Nos équipes de recherche couvrent un spectre assez large de disciplines et recrutent par conséquent leurs étudiants stagiaires dans un éventail assez large de Masters. Bien sûr, les étudiants issus du Master de l'UPMC sont et seront privilégiés. Ils sont jusqu'à présent issus des spécialités actuelles suivantes :

- Océanographie et Environnement Marins
- Ecologie Biodiversité et Evolution
- Biologie et Physiologie Comparées
- Microbiologie environnementale

Nous contribuerons activement au développement des nouvelles filières du Master de l'UPMC, en particulier le Master International (Biologie Intégrative UPMC/PUCCHILI/Université de Barcelone), et le Master Européen (European Master in Marine Biodiversity and Conservation, MarBEF).

Mais nous ne nous priverons pas de recruter des étudiants issus de certaines spécialités de Master d'autres Universités, quand la formation proposée apparaîtra plus en adéquation avec nos problématiques. Nos liens actuels seront donc poursuivis avec notamment:

- Master des Sciences de la Mer et du Littoral, Brest
- Master Microbiologie, Brest et Rennes
- Master Biologie Evolutive et Ecologie, Montpellier II
- Master Biodiversité et Ecosystèmes continentaux et marins, Lille 1
- Master Biologie spécialité éthologie écologie évolution, Rennes 1
- Master Environnement et Espaces littoraux, La Rochelle
- ...

Ecoles doctorales

La législation en vigueur impose que chaque équipe ne soit affiliée qu'à une et une seule école doctorale. C'est une limitation préjudiciable au développement de thématiques transversales et interdisciplinaires, pourtant appelé de leurs vœux par nos tutelles. La structuration de l'unité en petites équipes répond en partie à cette nécessité de diversification des formations doctorales. Les équipes de l'UMR sont ainsi réparties sur quatre écoles doctorales, 3 de l'UPMC et une de l'UBO.

Université Pierre et Marie Curie

Ecole Doctorale Sciences de l'Environnement d'Ile de France (RéTroProd, PPSM, EPPO)

Ecole Doctorale Diversité du Vivant (DivCo, BEDIM, GAME, DPO)

Ecole Doctorale InterBio (EI2ME)

Université de Bretagne Occidentale

Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, UBO, (CHIM)

Il faut souligner ici que sur les 36 doctorants actuellement présents dans l'unité, la moitié bénéficie d'une allocation du Ministère. Nous apportons donc une contribution importante de financements extérieurs aux Ecoles Doctorales, provenant des collectivités territoriales (4 bourses de la Région Bretagne), de l'Europe (4 bourses du programme ESTeam), ou d'autre pays et notamment le Chili à travers le LIA Diams (4 co-tutelles).

Colloques et école thématiques

Les équipes de l'unité sont très actives en ce qui concerne l'organisation de divers types de réunion, à Roscoff ou ailleurs (voir Bilan des équipes et fiches individuelles). Le large registre de collaborations internationales entretenues et les superbes possibilités d'accueil du site devraient

nous permettre de continuer sur notre lancée et d'attirer vers Roscoff des séminaires et conférences de haut niveau.

Un effort important a été et sera consacré aux écoles thématiques et ateliers qui contribuent largement à la formation permanente des chercheurs mais aussi à celle des doctorants et post-doctorants.

Expression des besoins prioritaires

Comme il a été souligné dans le bilan général, les deux points noirs du laboratoire sont le manque d'espace de travail et la pénurie de postes titulaires d'aide technique.

Le manque d'espace est bien sûr lié au développement important de notre laboratoire, mais ce développement a été souhaité et encouragé par la Station Biologique de Roscoff et par nos tutelles. Les projets actuels d'extensions et rénovations immobilières à Roscoff doivent être menés rapidement à terme et, surtout, profiter équitablement aux différentes missions de la Station Biologique de Roscoff, en particulier et en priorité à la recherche.

Au-delà du simple problème d'espace vital, qui au demeurant commence à poser des problèmes de sécurité, nous avons besoin de cet espace supplémentaire pour l'implémentation de notre projet. En effet, le fonctionnement proposé, petites équipes et mutualisation de locaux et d'aide technique, nécessite de pouvoir organiser géographiquement les différentes équipes proposées dans ce projet. Les locaux actuellement affectés à notre unité sont en effet répartis sur l'ensemble des bâtiments de la SBR. Nous avons proposé différents aménagements en ce sens (voir ci-dessous) et demandons qu'une concertation sérieuse, argumentée et approfondie ait lieu sur cet aspect, en anticipant sur les futurs travaux de constructions et de rénovation, afin d'établir une bonne visibilité des développements possibles de notre unité.

La forte carence en aide technique titulaire dans notre unité a déjà été évoquée dans le bilan. La situation de notre unité est dramatique par comparaison aux autres unités du site ou aux unités comparables de l'UPMC et du CNRS. Nous sollicitons le CNRS avec opiniâtreté (demandes Labintel récurrentes), mais aussi l'UPMC, pour remédier rapidement à cette situation. En effet, depuis 2001, année de la transformation de l'ex-"Unité propre de recherche" CNRS en unités mixtes, aucun poste technique IATOS de l'UPMC n'a été affecté aux unités de recherche, en particulier la nôtre. Or, en dehors du fait que nous devons pouvoir ces besoins d'aide technique en puisant dans nos ressources propres, la présence d'aide technique titulaire dans les équipes de recherche française constitue un atout non négligeable dans notre participation à des programmes internationaux.

Enfin, un autre problème récurrent concerne l'acquisition et la jouvence des petits et moyens équipements, indispensables aux activités de routine de toutes les équipes et systématiquement acquis par le biais de co-financements. Du fait de la non-coordination des différentes sources de financement, il devient ainsi de plus en plus difficile voire impossible de réaliser l'acquisition d'un équipement léger de 30 k€ en moins de trois ans.

Locaux

Le constat est simple: la surface allouée à notre UMR au sein de la SBR dans l'actuel contrat quadriennal est de 1072 m² (en surface utile), pour un effectif affiché à l'époque (fin 2003) de 53 personnes. La surface allouée dans cette demande de renouvellement est de 1128 m² pour 88 personnes (voir tableau 1.4 en surface SHON). Cela correspond à une augmentation de surface de 0,6%, à mettre en rapport avec une augmentation d'effectif de 60%... Ou encore une surface de moins de 13m² par personne, espaces laboratoires et bureaux confondus.

Nous souhaitons qu'ait lieu une identification claire des surfaces disponibles et des échéances pour la libération de nouveaux locaux compte tenu des programmes immobiliers en cours à la SBR. Naturellement, l'allocation des locaux aux différentes unités du site doit se faire sur la base d'une réelle concertation inter-unités et d'une assiette réaliste des effectifs (nombre

réel de personnes présentes). Cet exercice aurait dû aboutir à l'inscription d'une surface accrue pour la Recherche au sein de la SBR, et particulièrement pour notre unité, sans porter préjudice à ses autres missions, enseignement et accueil.

Des solutions existent. L'acquisition du Gulf Stream (+32 chambres) aurait pu permettre de transformer une petite partie (175 m²) des chambres des bâtiments YD/GT en espace recherche (bureaux). A l'horizon 2010, soit à mi-parcours du prochain contrat quadriennal, l'achèvement de l'Institut de Génomique Marine (IGM) et la transformation des bibliothèques d'archive du bâtiment YD en espace recherche, offrirait une surface de plus de 500 m² dont l'usage n'a pas encore été sérieusement évoqué. Enfin, la libération d'un étage complet de l'Hotel de France à l'achèvement des opérations Gulf Stream et IGM devrait permettre de regrouper l'ensemble des hébergements dans ce bâtiment, et de consacrer à la recherche l'ensemble des bâtiments YD et GT (+ de 400 m²). Ce qui de surcroît clarifierait les problèmes d'hygiène et sécurité que soulève la promiscuité de logements et de laboratoires.

Au-delà de la simple nécessité de disposer d'un espace vital décent pour développer nos activités, la mise à disposition de ces surfaces permettrait d'organiser les groupes et équipes de recherche de façon rationnelle et fonctionnelle. C'est une condition incontournable pour permettre les interactions entre équipes et instaurer une mutualisation de personnels et d'équipements: laboratoires de biologie moléculaire, pièces de microscopie, salles de culture et d'expérimentation, salles humides de "retour terrain",...

Personnels

Ingénieurs et Techniciens

Pour rétablir un rapport acceptable de 1 ITA pour 2 chercheurs – situation courante dans nombre d'unités comparables à la nôtre - il faut absolument rattraper le retard accumulé lors du présent contrat quadriennal en planifiant le recrutement de 10 postes techniques au cours du prochain quadriennal. Les profils de postes ont été maintes fois discutés et hiérarchisés en Conseil Scientifique. Ces postes, demandés au CNRS via Labintel, peuvent également être pourvus par l'UPMC...

1. AI Ecologie moléculaire – Equipes DivCo et BEDIM
2. IE Chromatographie gazeuse – Equipe Chimie marine
3. IE Transcriptome et mutagenèse – Equipes PPSM, DPO et EPPO
4. AI Biologie moléculaire et biochimie – Equipes EI2ME et GAME
5. IE Physiologie et culture plancton – Equipes EPPO, DPO et PPSM
6. AI Expérimentations laboratoire – Equipes BEDIM & DivCo
7. AI Expérimentations terrain – Equipes RéTroProd, DivCo et BEDIM
8. AI Biochimie et Biologie Moléculaire – Equipes DPO, EPPO et PPSM
9. IR Expression des Protéines – Equipes EI2ME et GAME, ou idéalement mutualisé FR
10. T Gestionnaire laboratoire – mutualisé UMR, pour prendre en charge les tâches administratives de plus en plus dévolues aux équipes de recherche (commandes, missions,...)

Chercheurs et enseignant-chercheurs

Plusieurs profils de chercheurs ou enseignant chercheurs sont proposés par les équipes pour développer leurs thématiques, les plus urgents étant:

- MC Protéomique comparative et stress oxydatif – L'objectif avoué est de pérenniser dès 2009 la présence de Jean Mary (équipe EI2ME), MC Paris 7 actuellement en délégation CNRS.
- changement d'affectation en 2009 de J.Y. Toullec, MC UPMC, pour renforcer l'équipe GAME.
- MC Ecologie et Génétique des Communautés Côtières – il s'agit de prévoir le départ en retraite de Franck Gentil à l'horizon 2010 (équipe DivCo).

En ce qui concerne les chercheurs, nous avons montré que nous étions capables d'attirer et de soutenir de bons candidats au concours de recrutement du CNRS. Les propositions des équipes peuvent néanmoins orienter l'affichage futur de certaines thématiques en développement dans le domaine.

Equipement

Les équipements lourds et mi-lourds de la Station Biologique de Roscoff sont pour la plupart regroupés sur les plateaux techniques de la Fédération de Recherche, la majeure partie d'entre eux devant être regroupés dans le prochain Institut de la Génomique Marine. Partie intégrante de la FR, notre unité soutient fortement le développement de ces infrastructures. Il nous semble pourtant qu'un maillon important manque actuellement au dispositif prévu au sein de l'IGM: il s'agit de la surexpression de protéines d'intérêt, étape essentielle entre génomique et transcriptomique proprement dites, qui permettent leur découverte, et biologie structurale, qui doit aboutir à caractériser leur fonction.

Les équipes ont par ailleurs inventorié un certain nombre d'équipements spécifiques nécessaires au développement de leurs projets (voir plus loin), les plus importants ayant été inscrits dans le Tableau des formulaires UR 1 en page 7 de ce document. Comme indiqué plus haut, certains d'entre eux bénéficient déjà du soutien partiel (10 à 30%) des collectivités territoriales, soutien qui ne deviendra effectif que dans la mesure où nous réunirons l'ensemble du financement.

Jouvence

- Séquenceurs/génotypeurs de type Li-Cor et scanner de gels 150 k€ - Equipes DivCO, GAME et BEDIM – Soutien CG 29
- Analyseur colorimétrique de flux segmenté type AutoAnalyzer 3, 75k€ HT – Equipe Chimie Marine et Service Observation de la FR
- Spectromètre de masse pour les analyses isotopiques ^{15}N / ^{13}C (Thermo Electron), 250 k€ HT – Equipes Chimie Marine et RéTroProd
- Cytomètre en flux analyseur (inscrit au CPER) – Equipes DPO, PPSM et EPPO
- Microscope à épifluorescence (inscrit au CPER) – Equipes DPO et EPPO
- Equipement de cryo-préservation de cultures algales Equipes DPO, EPPO et PPSM (ces trois derniers projets sont liés à la Souchothèque de Bretagne, et inscrit dans le projet de la FR au titre du CPER)

Acquisition

- Respiromètres hyperbares et analyseur GC/MS 80 k€ - Equipes EI2ME et GAME – Soutien CG 29
- Analyseur coulométrique de Carbone Inorganique Dissous (CID) et d'alcalinité (AT) et extracteur MARIANDA, 72k€ HT, Equipes Chimie Marine et EPPO
- Plateau technique de surexpression de protéines, 150 k€HT (fermenteurs, étuves, centrifugeuse, ...). Equipes EI2ME, GAME et PPSM.

- - - - -

Equipe
Chimie Marine
Responsable: Pascal Morin

Composition prévue en 2008 / 2009

Personnel Permanent		Personnel Temporaire	période
BOZEC Yann	CR, 02/08-	CARADEC Julien, D	> 2008
L'HELGUEN Stéphane	CR	LOUARN Essylt, D	> 2008
LE CORRE Pierre	PR émérite	RAIMUND Stefan, D	> 2009
MAGUER Jean François	MC	VANDENHECKE Jennifer, D	> 2009
MEVEL Geneviève	CR, HDR	TANGUY Virgine, D	> 2010
MORIN Pascal	CR		
RISO Ricardo	MC, HDR		
WAELES Matthieu	MC		
MACE Eric	AI		
MASSON STROESSER Annick	T, 30%		
VERNET Marc	T		

Thématiques de recherche développées par l'équipe – Projet scientifique 2009-2012

L'équipe Chimie Marine développera ses recherches en continuité avec les études menées ces dernières années selon quatre axes majeurs :

Thème 1 : Dynamique de l'azote et des éléments associés dans les systèmes côtiers et océaniques

Responsable : S. L'Helguen

Etude des systèmes côtiers

Les études que nous avons réalisées ces dernières années ont montré que le fonctionnement des systèmes côtiers dépend fortement de l'intensité de l'hydrodynamisme. Des travaux ont débuté afin d'étudier la réponse du phytoplancton aux variations de lumière qui résultent des changements du régime de mélange vertical des masses d'eaux. Il s'agit, en déterminant les paramètres cinétiques de l'absorption du nitrate et de l'ammonium, d'examiner la capacité des cellules phytoplanctoniques à s'adapter aux variations du régime lumineux auxquelles elles sont soumises lorsqu'elles sont déplacées verticalement dans la colonne d'eau.

Nous avons aussi comme objectifs de poursuivre dans les prochaines années l'étude des systèmes côtiers perturbés par les apports anthropiques. La capacité de ces systèmes à piéger les éléments minéraux d'origine terrestre dépend de l'aptitude de ces systèmes à transformer les matières dissoutes en matières particulaires. Notre intention est d'étudier ces transformations au moment du bloom printanier lorsque les flux de matières sont potentiellement les plus importants. Les travaux doivent être réalisés en Rade de Brest dans le cadre du projet ANR COSMIC (2007, Partenaire 2, resp. L. Chauvaud). Nous nous proposons :

- de quantifier l'utilisation des apports d'azote minéral d'origine terrestre par le phytoplancton lors du bloom printanier,
- d'examiner le devenir de la matière organique produite (dégradation, sédimentation),

- d'examiner le rôle du compartiment benthique dans la rétention de la matière organique sédimentée.

Etude des systèmes océaniques

De nouveaux travaux sont engagés pour étudier les facteurs qui contrôlent le processus d'absorption du nitrate et la production nouvelle en milieu océanique. Si l'absorption du nitrate dépend en premier lieu de sa concentration dans le milieu (MacIsaac et Dugdale, 1969), d'autres facteurs tels que la lumière (MacIsaac et Dugdale, 1972), l'absence de métaux trace, de fer en particulier (Martin et al., 1990) ou la présence d'ammonium (Dortch, 1990) sont aussi mis en avant. La co-limitation de l'absorption du nitrate par ces différents facteurs sera étudiée en culture chez une diatomée océanique (*Thalassiosira oceanica*) dans le cadre du projet ANR BOA (resp. G. Sarthou).

Il est aussi prévu d'étudier la fixation du diazote atmosphérique par le phytoplancton qui contribue de manière significative à la production nouvelle et au flux d'exportation du carbone dans les zones océaniques (Karl et al., 1997). Si les facteurs contrôlant la croissance des diazotrophes et la fixation de N_2 demeurent peu connus, il semblerait que ces processus soient en partie limités par la disponibilité en fer (Kustka et al., 2003). Afin de tester cette hypothèse des expérimentations (techniques ^{15}N) seront réalisées sur des cultures de *Trichodesmium*, diazotrophe le plus répandu dans l'océan mondial (Projet ANR BOA). Le rôle de la disponibilité en fer sur la fixation de N_2 sera par ailleurs examiné pour l'ensemble de la communauté phytoplanctonique dans un écosystème lagunaire de la Nouvelle Calédonie sous l'influence d'apports anthropiques (Projet PNEC-EC2CO et projet ANR EMPHYBI).

Thème 2 : Eléments métalliques : Devenir dans le gradient salé côtier et exportation vers le domaine océanique

Responsable : R. Riso

Dans les systèmes côtiers

Jusqu'à présent nos travaux sur les éléments traces métalliques dans les systèmes côtiers ont porté sur le cuivre le plomb et le cadmium. Notre objectif sera, en s'appuyant sur les nouvelles techniques qui ont été développées au laboratoire :

- d'étudier la répartition des métalloïdes (sélénium, arsenic) dans leurs différentes formes chimiques en phase dissoute en relation avec les conditions hydrologiques, en particulier, dans la zone du gradient salé.
- d'évaluer l'influence des processus biologiques et des colloïdes en particulier sur la répartition de formes métalliques.

Dans les systèmes océaniques

Les métaux pour un certain nombre (cadmium, cuivre, zinc) présentent un comportement de type nutriment. Il a été montré à de multiples reprises qu'ils étaient utilisés par le phytoplancton lors de leur croissance. Le comportement type éléments nutritifs implique que les métaux soient aussi régénérés d'une manière similaire à celle des éléments nutritifs. L'hypothèse peut être avancée qu'il existe des rapports constants entre élément nutritif régénéré et le métal formé ($\Delta PO_4^{-3} / \Delta Cd$ constant par exemple). Afin d'examiner cette hypothèse, nous proposons :

- d'étudier les variations des métaux dans la zone du minimum d'oxygène dans l'Atlantique,
- d'étudier en parallèle les variations de l'oxygène et des éléments nutritifs.

Les travaux sont actuellement développés en zone tropicale (Golfe de Guinée) dans la zone de formation du minimum d'oxygène dans l'Atlantique. Les résultats obtenus lors de la campagne BIOZAIRE (III) sont en cours d'exploitation et une deuxième campagne est à l'étude pour 2009.

Thème 3 : Traceurs chimiques de la circulation océanique et gaz climatiquement actifs

Responsable : P. Morin

Lors du prochain contrat quadriennal, les études concernant l'utilisation des traceurs chimiques naturels et transitoires pour caractériser la circulation océanique seront poursuivies dans l'Atlantique nord et celles concernant les gaz climatiquement actifs (CFCs, VHOC) seront renforcées. Suite au recrutement en 2007 de Yann Bozec, une nouvelle thématique concernant les flux de CO₂ à l'interface air-mer dans les systèmes côtiers sera développée dans l'équipe. Ces études compléteront celles concernant les flux de VHOC réalisées sur les systèmes des plateaux continentaux de Manche occidentale et Atlantique.

Variabilité interannuelle à décennale de la circulation océanique dans l'Atlantique nord :

Les études concernant la variabilité interannuelle à décennale de la circulation océanique dans l'Atlantique nord seront poursuivies dans le cadre du projet OVIDE qui est une composante du programme international CLIVAR. Ce projet a pour objectif de répéter 5 fois avec un intervalle de 2 ans une radiale d'hydrologie – géochimie entre le Groenland et le Portugal. Trois radiales ont déjà été occupées entre 2002 et 2006. Notre équipe est en charge de l'acquisition des données en traceurs chimiques naturels et transitoires en complément des traceurs physiques et des mesures de courantométrie prises en charge par le Laboratoire de Physique des Océans et des mesures des paramètres du CO₂ prises en charge par nos collègues du CSIC – Vigo (Espagne). Notre projet reposera entre 2008 et 2010 sur la réalisation des deux dernières radiales et sur l'exploitation des données acquises depuis 2002. Les principaux objectifs sont de :

- caractériser la variabilité interannuelle des propriétés chimiques et de la circulation des différentes masses d'eau de l'Atlantique nord des couches superficielles aux couches profondes,
- déterminer les échelles de temps de la circulation profonde et en particulier les vitesses moyennes de circulation des composantes de la LSW en mer d'Irmingier et dans l'Atlantique nord-est,
- estimer la variabilité de la formation des eaux profondes en mer du Labrador en réponse aux oscillations semi décadales de l'Oscillation Nord Atlantique (NAO),
- quantifier la variabilité interannuelle des transports d'éléments nutritifs et de fréons.

Gaz climatiquement actifs : flux de CO₂ à l'interface air-mer en milieu côtier :

Alors que les flux de CO₂ à l'interface air-mer sont relativement bien quantifiés en milieu océanique, les études réalisées en milieu côtier restent peu nombreuses et le rôle de l'océan côtier dans la pompe globale du CO₂ atmosphérique reste mal évalué. Ceci s'explique par le manque de mesures mais aussi parce que la prise en compte des écosystèmes côtiers aux flux globaux de CO₂ est très généralement ignorée dans la plupart des modèles globaux climatologiques (Takahashi et al., 2002). Il est donc nécessaire d'améliorer les connaissances sur les flux de CO₂ dans les systèmes côtiers en étudiant les différents mécanismes qui contrôlent les échanges air-mer de CO₂ via les pompes biologique et physique et de déterminer quelles régions de l'océan sont capables d'absorber ou de rejeter du CO₂. Les travaux qui seront développés seront dans la continuité des études menées en mer du Nord par Bozec et al. (2006). Les principaux objectifs seront de :

- quantifier les variations interannuelles des flux air-mer de CO₂ dans les différents systèmes côtiers types (stratifiés, homogènes et frontaux) des zones tempérées. Les travaux seront réalisés en Manche occidentale lors de campagnes saisonnières couvrant les différents systèmes hydrologiques de manière à pouvoir établir un bilan régional des

échanges. Ils seront complétés par des mesures bimensuelles au point fixe dans le système homogène de Manche occidentale avec pour but d'établir un bilan annuel précis des échanges air-mer de CO₂.

- étudier l'acidification des océans et son impact sur le phytoplancton « calcaire » (coccolithophoridés) en s'appuyant sur des mesures réalisées sur des séries temporelles (SOMLIT et MAREL).

Gaz climatiquement actifs : production de VHOC dans les systèmes côtiers et océaniques

Les composés organiques halogénés volatils ont une double origine en milieu marin : ils sont produits naturellement par les macroalgues et le phytoplancton ou introduits par le biais des activités humaines. Ces composés sont ensuite émis vers l'atmosphère où ils participent à la destruction de l'ozone et au renforcement de l'effet de serre. Les bilans des échanges à l'interface air-mer restent encore mal connus et nos travaux auront pour objectifs :

- de quantifier la production de VHOC et les flux d'émission de ces composés vers l'atmosphère dans des zones productives de l'océan côtier et hauturier. Les travaux seront réalisés dans :
 - les zones d'upwellings océaniques de la marge ibérique caractérisées par un accroissement des biomasses planctoniques par rapport aux zones océaniques du large,
 - les zones côtières soumises à de forts apports anthropiques (estuaire de la Penzé en baie de Morlaix). Un bilan annuel de la production des VHOC et des échanges air-mer sera réalisé dans différents sites caractérisés par un gradient croissant d'apports en nitrates.
- d'étudier les mécanismes responsables de la production des VHOC par les macroalgues et le phytoplancton notamment en réponse à l'agression de pathogènes ou d'organismes brouteurs.

Thème 4 : Développements analytiques

Les développements analytiques sont réalisés en permanence dans les différents sous thèmes de l'équipe. Ils ont pour objectifs généraux d'améliorer les méthodes d'analyses des différents composés chimiques mesurés par notre équipe (métaux traces, CFCs, VHOC). Les principales directions qui seront explorées lors du prochain quadriennal seront pour les différents thèmes :

Elements traces :

Dans le domaine analytique, les résultats que nous avons obtenus concernant les éléments métalliques montrent que le choix de méthodes chronopotentiométriques par redissolution de type PSA et CCSA s'est avéré pertinent. La poursuite des travaux dans ce domaine sera effectuée selon différentes directions :

- nous allons poursuivre le développement des méthodes chronopotentiométriques par redissolution pour le dosage des métaux et métalloïdes qui sont connus par leurs fonctions métaboliques vis-à-vis des organismes marins (Fe, Zn, Mo, Mn etc...) ou par leur caractère toxique (As, Cr, etc...). Une attention particulière sera portée à l'étude de la « spéciation rédox » des éléments. Nous nous proposons de développer en particulier l'analyse des espèces suivantes : Fe(II) et Fe(III), As(III) et As(V), Cr(III) et Cr(VI).
- les travaux méthodologiques consacrés au dosage du cuivre ont mis clairement en évidence l'importance de la nature de l'électrode de travail. Nous nous proposons de poursuivre le développement analytique en utilisant des électrodes de nature différente. Des électrodes d'argent et des électrodes en amalgame dentaire, déjà mises en œuvre pour d'autres techniques, seront utilisées. Ceci doit permettre d'améliorer la sensibilité de certaines méthodes (cas du dosage du plomb à l'électrode d'argent) et de diminuer les interférences liées à la présence dans le milieu d'autres éléments métalliques mais

aussi de la matière organique. Il s'agit également de travailler avec des électrodes qui ont des propriétés assez proches de celle de l'électrode de mercure mais qui sont moins polluantes.

Traceurs chimiques – gaz climatiquement actifs :

Les développements concerneront principalement l'identification de nouveaux traceurs de la circulation océanique en complément des fréons déjà utilisés dans l'équipe. L'utilisation des fréons est interdite depuis le protocole de Montréal et les concentrations de ces composés montrent peu de variations dans l'atmosphère rendant de plus en plus délicate leur utilisation pour dater les masses d'eau les plus récentes. Notre équipe a pour objectif de maîtriser l'analyse de composés qui ont remplacés les fréons dans leurs utilisations industrielles. Les potentialités d'utilisation du CFC-22, des HCFCs et des HFCs comme traceurs transitoires de la circulation seront examinées. Des échantillons ont été collectés en 2006 dans les eaux profondes au large du Groenland et dans le golfe de Gascogne avec de nouveaux préleveurs spécialement adaptés. Les développements analytiques pour mesurer ces composés par couplage GC-MS sont actuellement en cours au laboratoire. Ces travaux de développements analytiques ne pourront être réalisés efficacement que par le recrutement d'un nouvel IE spécialisé dans les mesures en GC-MS dans l'équipe qui fait l'objet d'une demande prioritaire de l'unité.

Masters et Ecole doctorale de rattachement

Master des Sciences de la Mer et du Littoral, Université de Bretagne Occidentale, Brest
Master Océanographie et Environnement Marins, Université Pierre et Marie Curie

Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Brest

Expression des Besoins

Equipement

- Analyseur InfraRouge de pression partielle de CO₂ (pCO₂) Li Cor 7000 et équilibrateur air-atmosphère, 38k € HT
- Chaîne d'analyse automatique avec détecteur fluorimétrique pour le dosage de l'ammonium, 24k€ HT
- Unité électrochimique MicroAutolab III + électrode tournante RDE contacts liquides. Prix 20 k€ HT
- Analyseur colorimétrique de flux segmenté type AutoAnalyzer 3, 75k€ HT
- Spectromètre de masse pour les analyses isotopiques ¹⁵N / ¹³C (Thermo Electron), 250 k€ HT
- Analyseur coulométrique de Carbone Inorganique Dissous (CID) et d'alcalinité (AT) et extracteur MARIANDA, 72k€ HT

Personnels

- Ingénieur d'Études : Développement des recherches sur les composés halogénés volatils (fréons, HCFC, VHOC) par analyses en Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

Références citées

- Dortch Q. (1990). The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, 61, 183-201.
- Karl D., Letelier R., Tupas L., Dore J., Christian J., Hebel D. (1997). The role of nitrogen fixation in biogeochemical cycling in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature*, 388, 533-538.

- Kustka, A.B., Sanudo-Wilhelmy, S.A., Carpenter, E.J., Capone, D., Burns, J. Sunda, W.G., (2003). Iron requirements for dinitrogen and ammonium supported growth in cultures of *Trichodesmium* (IMS 101) : comparison with nitrogen fixation rates and iron/carbon ratios of field populations. *Limnol. Oceanogr.*, 48: 1869-1884.
- MacIsaac J.J., Dugdale R.C. (1969). The kinetics of nitrate and ammonia uptake by natural populations of marine phytoplankton. *Deep-Sea Res.*, 16, 45-57.
- MacIsaac J.J., Dugdale R.C. (1972). Interactions of light and inorganic nitrogen in controlling nitrogen uptake in the sea. *Deep-Sea Res.*, 19, 209-232.
- Martin, J. H., Fitzwater, S. E., Gordon, P. M. (1990). Iron deficiency limits phytoplankton growth in Antarctic Waters. *Global Biogeochem. Cycles* 4: 5-12.

Equipe

Réseaux trophiques et productions benthiques

ReTroProd

Responsable: Dominique DAVOULT

Composition prévue en 2008/2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
DAVOULT Dominique	PR, HDR	GOLLETY Claire, D	11/05-
LEVAVASSEUR Guy	CR, HDR	OUISSE Vincent, D	10/07-
MIGNE Aline	MC	SCHAAL Gauthier, D	10/06-
RIERA Pascal	MC, HDR		
		BROUDIN Caroline, T C	
MICHEL Renaud	T		

Thématique

La problématique générale de l'équipe est l'étude de l'architecture et du fonctionnement des réseaux trophiques benthiques littoraux et côtiers, en conditions naturelles ou sous pression anthropique, et la caractérisation et la quantification de la production primaire et de la respiration. Le fonctionnement des écosystèmes benthiques côtiers est étudié via :

- L'estimation des productions secondaires (matière organique et carbonate de calcium) d'espèces benthiques clés
- L'étude de la diversité spécifique (relation diversité-fonctionnement)
- La mesure *in vitro* (oxymétrie) et *in situ* (diving-PAM) de la photosynthèse des espèces clés
- La mesure *in situ* (chambres benthiques à l'émersion et à l'immersion) du métabolisme global (production primaire et respiration) des écosystèmes sédimentaires et rocheux intertidaux à différentes échelles spatio-temporelles
- La caractérisation des réseaux trophiques (isotopes stables du carbone et de l'azote) intertidaux et côtiers

Projet scientifique concis 2009-2012

Thème 1 : Réseaux trophiques et production des systèmes littoraux peu ou pas anthropisés

Réseaux trophiques et production des systèmes rocheux intertidaux

Ce thème, dont l'étude a débuté en 2005, s'efforce de répondre aux questions suivantes, afin de comprendre quantitativement et qualitativement le fonctionnement de ces milieux réputés productifs mais finalement mal connus :

- Quelles macroalgues contribuent en priorité aux voies de transferts trophiques dans ces écosystèmes?

- Quelle est l'importance relative des différents producteurs primaires (macroalgues, phytoplancton, lichens, microphytobenthos) ?
- Comment varie la production primaire globale à l'émersion et à l'immersion, comment s'effectuent les transitions émigration/immersion en termes d'adaptation aux variations lumineuses ?
- Quel est l'ordre de grandeur de la production primaire annuelle et quel est le niveau d'autotrophie du système ?
- Quel est le rôle de la canopée sur le fonctionnement et le maintien de la diversité globale associée ?
- Comment le fonctionnement de ces systèmes peut-il varier avec l'évolution des conditions environnementales (augmentation de température, du pH, du CO₂) ?

Ce projet a commencé en 2006 sur l'étage médiolittoral (ceintures à *Ascophyllum nodosum* et à *Fucus serratus*, thèse C. Gollety, programme **EC2CO**, projet **BIOFUSE** de MARBEF).

Réseaux trophiques et production des herbiers à zostères intertidaux

Les herbiers à zostères sont des écosystèmes connus pour leur diversité et leur fragilité potentielle. Leur fonctionnement reste toutefois assez mal connu, que ce soit en conditions naturelles ou sous l'action de différentes pressions anthropiques, en particulier le rôle (et son évolution potentielle) des différents producteurs primaires du système ainsi que les différentes voies de transfert de matière en fonction du niveau de développement de l'herbier. L'étude mettra en particulier l'accent sur :

- L'analyse de l'adaptation des herbiers de zostères (*Z. marina* et *Z. noltii*) aux alternances émigration/immersion
- L'importance relative des zostères et du microphytobenthos dans les processus de production primaire

Ce thème doit démarrer début 2008, thèse de V. Ouisse (octobre 2007-), une collaboration est prévue avec J. Clavier (IUEM)

Thème 2 : Réseaux trophiques et production des systèmes littoraux anthropisés

Réseaux trophiques et production des systèmes rocheux littoraux anthropisés

Ces systèmes s'étant considérablement développés sur nos côtes, et leur fonctionnement étant lié à la fois à l'artificialisation des milieux et aux connexions aux systèmes naturels environnants, nous essaierons de répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les modifications fonctionnelles associées aux réseaux trophiques des estrans rocheux "artificiels", de plus en plus présents sur nos côtes ?
- Comment le fonctionnement de ces systèmes peut-il varier avec l'évolution des conditions environnementales (augmentation de température, du pH, du CO₂) ?

Ce projet a débuté sur l'étage infralittoral (ceinture à *Laminaria digitata*, thèse G. Schaal, **ANR ECOKELP**). Une demande de programme dans le cadre du FP7 est en cours (**DYNAMO**).

Réseaux trophiques et production des vasières intertidales

Les vasières sont souvent des systèmes fortement anthropisés sous l'action conjuguée des processus d'eutrophisation, d'accumulation de polluants associés à la fraction fine du sédiment et à la matière organique, et d'une forte occupation de ces milieux à des fins conchylicoles.

- Rôle trophique des biofilms microbiens dans les vasières intertidales (Baie de Marennes-Oléron)

Les vasières sont le siège d'une intense production primaire microphytobenthique, déjà bien étudiée, et d'une production bactérienne associée. La production de biofilm structure ces vasières et régule la dynamique du sédiment superficiel et de la matière organique associée et joue un rôle fondamental pour l'ensemble du réseau trophique benthique et pélagique, rendant nécessaire une étude plus intégrée, plus systémique. Cette approche a débuté en 2007 dans le cadre de l'**ANR VASIREMI** "Trophic significance of microbial biofilms in tidal flats". Ce projet vise à une vision intégrée du fonctionnement écologique des vasières intertidales dans un schéma plus global des flux de carbone (description et quantification du déterminisme de la production bactérienne et son devenir dans l'écosystème).

Dans ce cadre, notre démarche consiste à comprendre, *via* une approche isotopique naturelle intégrée sur l'ensemble des compartiments, le devenir du biofilm en tant que support des réseaux trophiques du benthos et du pelagos après remise en suspension.

- Variabilité spatio-temporelle des flux de CO₂ dans le Bassin d'Arcachon

Le Bassin d'Arcachon est soumis à une forte pression ostréicole ; en outre, il subit régulièrement des proliférations d'algues toxiques. Les différents milieux sédimentaires présents dans le Bassin (sables, vasières nues, herbiers à zostères) sont le siège d'une intense activité biologique, notamment d'une forte production primaire malgré la forte turbidité des eaux. Notre travail s'inscrit dans le cadre de l'**ANR PROTIDAL** (coord. P. Anschutz). Ce projet vise à intégrer les différents aspects de la dynamique du Bassin, notamment celle des flux de matières ; nous participons en collaboration à l'étude de la variabilité spatio-temporelle des flux de CO₂, O₂ et de sels nutritifs aux interfaces eau-sédiment, air-sédiment et air-eau.

Collaborations

- Station Marine de Wimereux (N. Spilmont, F. Gevaert, L. Seuront)
- UMR BOME, MNHN (T. Méziane)
- UMR 885/INRA Rennes
- UMR Arcachon (A. Grémare, P. Anschutz)
- IUEM (J. Grall, J. Clavier)
- Marine Biological Association, Plymouth (S. Jenkins)
- Sediment Ecology Research Group, Gatty Marine Laboratory, St Andrews (D. Paterson)
- Biological Station Helgoland, AWI (M. Mollis)
- CIMAR, Portugal (F. Arenas, I. Sousa-Pinto)
- University College Dublin (T. Crowe, M. Cusson)

Masters et Ecole doctorale de rattachement

Master Science et Technologie de l'Université Pierre & Marie Curie-Paris 6

Ecole Doctorale Sciences de l'Environnement d'Ile de France, UPMC

Expression des Besoins

Equipement

Pas de demandes d'équipement mi-lourd.

Personnels

L'équipe développe depuis deux ans une thématique "production et réseaux trophiques des milieux intertidaux rocheux". Actuellement, le manque de personnel technique constitue un frein important au développement de nos activités et limite fortement nos possibilités de répondre aux appels d'offres et aux demandes de collaboration.

Un CR, deux MC, un Pr et deux doctorants sont impliqués. Des mesures sont faites *in situ* (chambre benthique, phytoPAM, divers capteurs) et des analyses au labo (Chl.a, O₂, analyse C et N, analyse isotopique). L'ITA (niveau AI) participera aux expérimentations, conditionnera les prélèvements, réalisera les analyses et formera les étudiants à celles-ci, assurera la maintenance des appareils.

Equipe Diversité & Connectivité dans le Paysage Marin Côtier *Div&Co*

Responsable: Frédérique Viard

Composition prévue 2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
COMTET Thierry	CR2	DREANNO Catherine P	09/06-09/08
GENTIL Franck	MC		
THIEBAUT Eric	MC	RIGAL François D	11/05-fin 2008
VIARD Frédérique	CR, HDR	TRIGUI Jihane D	09/05-fin 2008
		LE CAM Sabrina D	10/05-fin 2008
DAGUIN-THIEBAUT Claire	IE 50%	AYATA Sakina D	10/06-fin 2009
		PEREZ Adilia D	09/07-fin 2010
		GRULOIS Daphné D	10/07-fin 2010

Thématique : La dispersion, un processus au cœur du fonctionnement et de l'évolution des populations et des communautés

La dispersion est un processus fondamental influençant de nombreux processus écologiques et évolutifs (cf. l'ouvrage édité par Clobert et al. en 2001). Son étude est transversale à de nombreux champs disciplinaires (Levin 2006) : elle intègre différents niveaux d'organisation biologique (individus, populations, communautés) et associe à la fois une dimension spatiale (connectivité) et une dimension temporelle (dynamique inter-génération) (Kinlan et al. 2005). Sur le long terme, la dispersion participe aux mécanismes de spéciation aux côtés des mécanismes d'adaptation locale (Turelli et al. 2001) et contribue à façonner les patrons biogéographiques (Cox & Moore 2000; Lester et al. 2007). Sur un plus court terme, ce processus affecte la dynamique démographique et la résilience des populations et des communautés (Hughes et al. 2005). Il agit également sur l'intensité des relations de compétition intra- et inter-spécifiques au sein des communautés, avec des implications importantes en termes de conservation des espèces et des milieux (Hughes et al. 2005; Botsford et al. 2001). De plus, la dispersion détermine pour partie les modalités de la reproduction (par ex. en agissant sur les distances de migration des gamètes) et le potentiel de recrutement en juvéniles (Ellien et al. 2004). Au sein d'un paysage donné, la dispersion apparaît ainsi comme un paramètre critique pour la dynamique de la diversité des populations et des communautés.

L'objectif scientifique de l'équipe « Diversité & Connectivité dans le Paysage Marin Côtier » (Div&Co) est de **caractériser les vecteurs de dispersion chez des espèces marines côtières et de déterminer quels sont leurs rôles sur la diversité et le degré de connectivité à deux niveaux d'organisation biologique : population et communauté**. Nous porterons sur cette thématique de recherche une attention particulière aux effets des forçages anthropiques notamment ceux liés aux changements climatiques et physiques du milieu ainsi qu'aux introductions/invasions biologiques.

Le projet de l'équipe Div&Co est structuré autour des activités de recherche de 4 chercheurs et enseignants-chercheurs (cf Tableau ci-dessus) qui émargeaient lors du précédent contrat quadriennal dans deux équipes de l'UMR AD2M: « Ecologie Benthique » (EB) et « Evolution &

Génétique des Populations Marines » (EGPM). La proposition de création de cette nouvelle équipe découle de quatre éléments :

(1) le développement du groupe Eco-Dive (Espèces côtières introduites-Diversité & Evolution) au travers d'un programme ATIPE (resp. F. Viard), initié en 2001 dans l'équipe EGPM ;

(2) l'arrivée récente, en 2006, d'Eric Thiébaud dont la thématique centrale est l'étude de la dispersion par des approches complémentaires de celles développées par des outils génétiques au sein du groupe Eco-Dive

(3) l'intensification croissante des collaborations et co-encadrements au cours de la période 2004-2007 entre les chercheurs et enseignants-chercheurs proposant le projet Div&Co, avec notamment des participations conjointes à de nombreux programmes nationaux (ex. PNEC « Site atelier Baie du Mont-St-Michel » (resp. C. Retière & P. Le Mao), PNEC-AT CHE (resp. P. Lazure & B. Planque), ANR MIRAGE (resp. F. Viard), ANR ECOKELP (resp. M. Valero)) et internationaux (ex. Réseaux d'Excellence MARBEF et MGE)

(4) la croissance importante en effectif et thèmes de recherche au sein des équipes EGPM et EB qui a conduit à une volonté commune de re-structurer les équipes en unités plus fonctionnelles (cf. Bilan EGPM/EB).

D'un point de vue scientifique et structurel, le projet de l'équipe Div&Co a ainsi pour ambition (i) d'accroître la visibilité des recherches menées au sein de l'UMR AD2M sur le thème de la dispersion chez les espèces marines côtières, (ii) de rendre plus efficace les étroites et nombreuses collaborations déjà engagées entre les chercheurs qui la constituent et (iii) de favoriser l'émergence de nouvelles approches (ex. génétique des communautés et écologie du paysage) en favorisant une intégration méthodologique depuis la génétique des populations jusqu'à l'écologie des communautés en s'appuyant sur des outils diversifiés sur le terrain et en laboratoire (modélisation, observations, expérimentation in situ et ex-situ, biologie moléculaire).

Cette équipe entretiendra des liens forts avec les deux autres équipes du groupe « Diversité, Fonctionnement et Evolution des Ecosystèmes Côtiers » : avec l'équipe de Dominique Davoult pour les aspects de fonctionnement des systèmes côtiers à l'échelle des communautés et avec l'équipe de Myriam Valero concernant notamment les études des cycles de vie et de la dispersion chez les macro-algues. Au sein de l'UMR AD2M, des collaborations seront également menées avec l'équipe de Didier Jollivet dont un des objectifs est de comprendre les bases de l'adaptation, un processus interagissant fortement avec les processus de dispersion.

Projet scientifique concis 2009-2012

L'équipe « Diversité et Connectivité » se propose d'explorer **différentes facettes liées à la dispersion et à ses conséquences sur la diversité des populations et des communautés chez des organismes marins côtiers**. Nous proposons de développer une approche d'écologie intégrative pour étudier ce processus écologique et évolutif fondamental pour la dynamique des populations et des communautés.

Nos recherches sont **ciblées sur la zone littorale et côtière soumise à de nombreuses contraintes d'origine anthropique** comme l'effet des changements climatiques (ex. température, acidification des eaux, modification de l'hydrodynamisme), des modifications physiques des habitats (ex. installations portuaires), les pollutions et les introductions/invasions biologiques. **L'ensemble de ces forçages anthropiques modifiant significativement le paysage et la composition des communautés, le degré de connectivité entre populations et son influence sur la diversité des populations et des communautés marines côtières sont des éléments critiques pour comprendre et prédire leur évolution** (Carlton 2000; Chapin et al. 2000; Duarte 2007). L'étude des conséquences des forçages anthropiques n'est pas un thème individualisé du projet Div&Co mais un axe transversal aux trois thèmes de l'équipe (cf ci-dessous) et qui détermine le choix des sites d'études mais également des modèles biologiques. **Nos modèles biologiques sont des espèces marines ayant une étape de leur cycle de vie sédentaire.**

Dans la continuité des recherches menées dans le groupe Eco-Dive, les espèces introduites/invasives seront des modèles biologiques privilégiés mais non exclusifs. Nous travaillerons sur quelques invertébrés à cycle benthopélagique déjà étudiés par les chercheurs de l'équipe, en particulier le gastéropode *Crepidula fornicata* et des annélides telles que *Sabellaria alveolata*, espèce à valeur patrimoniale (récifs d'hermelles). Afin d'appréhender des questions relatives à l'existence de phases dispersives très courtes, des algues seront également ponctuellement intégrées au projet (l'algue invasive *Undaria pinnatifida* par exemple).

Trois axes de recherche seront spécifiquement développés :

- (1) Analyse du couplage benthos-pelagos chez les invertébrés à cycle benthopélagique
- (2) Etude de la connectivité entre populations dans le paysage côtier
- (3) Approche intégrée de la diversité des communautés

Pour chacun de ces axes thématiques, nous proposons une approche s'appuyant sur des méthodologies complémentaires:

- (1) des observations *in situ* visant par exemple à étudier la dynamique de populations ou décrire les communautés (adultes et larvaires)
- (2) des expérimentations biologiques en laboratoire (ex. effets de paramètres biotiques et abiotiques sur la durée de vie larvaire)
- (3) des études moléculaires visant à étudier la diversité taxonomique, estimer les flux de gènes ou le taux de dispersion efficace et décrire les modalités du recrutement
- (4) des approches par modélisation pour proposer des patrons de dispersion potentielle et décrire les évolutions des populations et espèces dans un paysage.

Notons que l'utilisation d'approches très diverses est permise par la facilité d'accès des zones côtières : (i) des expérimentations *in situ* et des observations sur le moyen et long terme peuvent être mises en place plus facilement qu'en milieu océanique lointain ou profond et (ii) le développement d'outils et d'approches d'écologie spatiale, de modèle numérique et de cartographie assistée par ordinateur (SIG) permettent dans ce milieu d'avoir une meilleure représentation de la distribution des individus, populations, espèces dans le paysage - un élément structurant dans l'étude de la dispersion. Par ailleurs, cette complémentarité d'approches repose sur les compétences spécifiques des chercheurs constituant l'équipe Div&Co, ces chercheurs interviendront ainsi quasiment systématiquement dans chacun des trois axes thématiques décrits ci-dessous.

Thème 1 : Couplage benthos-pelagos chez les invertébrés à cycle benthopélagique

Participants : Thierry Comtet, Frédérique Viard, Franck Gentil, Eric Thiébaud, Catherine Dreanno (P), Sabrina Le Cam (D), François Rigal (D), Adilia Perez (D)

Chez les invertébrés marins à cycle de vie benthopélagique, la larve est un stade clé pour les populations, étant le vecteur majeur (voire unique) de dispersion. La production des larves est sous la dépendance des processus reproductifs se déroulant au sein de la population benthique, et la dynamique de la population larvaire contrôle en partie la dynamique de la population benthique au travers des processus de sédentarisation et de recrutement (Roughgarden et al. 1988; Grosberg & Levitan 1992; Connolly & Roughgarden 1998). Depuis le milieu du 20ème siècle et les travaux précurseurs de D.P. Wilson, de nombreux travaux ont permis de mettre en évidence l'influence de nombreux facteurs sur la dynamique de la population larvaire. Ainsi, des facteurs tels que la température ou l'abondance de nourriture vont influencer la durée de vie pélagique des larves (Bos et al. 2006; O'Connor et al. 2007). De même, divers facteurs d'origine biotique ou abiotique peuvent contrôler la métamorphose des larves aptes à se métamorphoser (dites « compétentes ») (Pechenik & Lima 1984; Hadfield 1998; Clare & Matsumura 2000). Enfin, à l'échelle intra-spécifique, des facteurs génétiques (liés à des caractéristiques familiales) peuvent entraîner des polymorphismes de dispersion se traduisant par exemple par des comportements différentiels d'aggrégation des larves (Toonen & Pawlik 2001).

L'objet d'étude central de ce thème est ainsi la larve pélagique dans le but de mieux comprendre les modalités du couplage entre cette phase libre pélagique et la phase benthique fixée. Différentes questions sont posées: (i) quel est le degré de synchronisme entre la présence des larves dans le milieu et leur sédentarisation dans la population benthique? (ii) peut-on mettre en relation les modalités de la reproduction et la diversité du pool larvaire? (iii) quels facteurs abiotiques (ex. température) ou biotiques (ex. présence d'adultes « attirant » les larves; polymorphisme larvaire) modulent le couplage benthopélagique? Compte-tenu des avancées déjà acquises sur ce thème sur l'espèce *Crepidula fornicata*, ce gastéropode sera un modèle privilégié sur lequel ces travaux seront effectués. Des études plus ciblées de dynamique des populations seront menées sur d'autres modèles biologiques notamment des annélides (thèse d'Adilia Perez). Ce thème est intégré au programme du LIA DIAMS et l'un des volets de ce thème est développé notamment au travers d'un projet ANR non thématique (projet ANR MIRAGE 2006-2009, resp. F. Viard).

a. Caractérisation du couplage : synergie temporelle entre les deux phases

Des suivis d'une population benthique du gastéropode introduit *Crepidula fornicata* et des larves de cette espèce en baie de Morlaix ont été initiés depuis 2004. Les premiers résultats obtenus dans le cadre des thèses de Sabrina Le Cam et François Rigal montrent une très bonne adéquation entre la présence de femelles incubantes et des larves dans le milieu. En revanche, les périodes de recrutement ne semblent refléter que partiellement les temps de présence des larves dans le milieu. Ces suivis seront poursuivis pour les analyser en perspective (i) des variations de température saisonnières et annuelles, la température étant un élément clé dans la compréhension des dynamiques de croissance, métamorphose et recrutement larvaire (Rigal et al, en prep; O'Connor et al. 2007) et (ii) de données de la littérature chez d'autres espèces à cycle benthopélagique.

b. Etude des bases des mécanismes amont-aval du couplage

i. Modalités de la reproduction : le travail réalisé au cours du précédent contrat quadriennal dans le développement d'outils moléculaires chez différentes espèces du genre *Crepidula* nous permettent de disposer de marqueurs (ex. microsatellites) pour analyser les modalités de la reproduction chez ces espèces (Dupont et al. 2006). Ces études seront approfondies chez *C. fornicata* (collab. J. Pechenik, U. Tufts) et étendues à d'autres espèces de crépidules (ex. *C. convexa*, collab. J. Pechenik (Tufts Univ. Boston), *C. coquimbensis*, collab. M. Fernandez/ A. Brante (PUC, Santiago, Chile)) présentant des cycles de développement différents afin d'analyser la relation entre protandrie (i.e. réversion sexuelle mâle-femelle au cours de la vie de l'individu), grégarité et diversité phénotypique (ex. croissance différentielle) ou génétique des larves.

ii. Sédentarisation des larves : les inadéquations « benthos-pelagos » observées dans les suivis (cf a) nous amènent à étudier des facteurs (ex. température) pouvant moduler l'acquisition de la compétence et la métamorphose. Dans ce contexte, nous développons des outils (ex. puce d'expression; projet ReX MGE) pour analyser les différentiels d'expression des gènes en fonction de différents facteurs abiotiques (température) et biotique (présence d'adultes) au cours du développement larvaire.

Thème 2 : Connectivité & Paysage en milieu côtier

Participants : Frédérique Viard, Eric Thiébaud, Thierry Comtet, Claire Daguin (IE), Sakina Ayata (D), Daphné Grulois (D)

Les taux et distances de la dispersion réalisée participent à la définition du degré de connectivité entre les populations et du potentiel de recrutement en juvéniles (Levin 2006). En outre, la dispersion a des implications écologiques et évolutives majeures sur la diversité génétique et la dynamique démographique des populations (Palumbi 2003) ainsi que sur l'expansion des espèces dans une aire géographique donnée, ce dernier point étant particulièrement important dans la dynamique d'invasion des espèces introduites (Kinlan & Hastings 2005). Dans le thème 1, nous nous sommes attachés à la seule composante temporelle

dans le couplage benthos-pelagos. Toutefois, les asynchronismes observés peuvent trouver une explication en intégrant la dimension spatiale (ex. apport de larves depuis des populations périphériques). L'objectif de ce thème 2 est ainsi d'adosser une dimension spatiale à l'étude du couplage benthos-pelagos en étudiant les modalités de la dispersion.

Il est classiquement admis que la durée de vie des propagules est un bon prédicteur de la capacité de dispersion des espèces marines (Kinlan et al. 2005; Levin 2006). Cependant, certains processus hydrodynamiques (ex. gyres, upwellings) combinés avec des comportements larvaires spécifiques jouent également un rôle majeur (Ellien et al. 2004; Viard et al. 2006, Dubois et al. sous-presse) par exemple en augmentant la rétention locale des larves. De tels processus vont ainsi à l'encontre du paradigme de « connectivité » en milieu marin (Cowen et al. 2000). Les études de génétique des populations ont par exemple mis en évidence des populations plus fermées à la migration par rapport aux attendus basés sur la simple durée de vie pélagique (e.g. Taylor & Hellberg 2003). La prise en compte du paysage et de son hétérogénéité, en termes d'habitats disponibles et de circulation de la masse d'eau, devient ainsi essentielle à notre compréhension des mécanismes assurant la connectivité entre populations. Cette réflexion a été à l'origine du concept de « seascape » (Galindo et al. 2006) par analogie au terme « landscape » privilégié dans le domaine terrestre. Notre travail sera ciblé sur quelques modèles biologiques soit des espèces naturelles des côtes du Nord-Est Atlantique soit des espèces introduites/invasives qui sont d'excellent témoins de processus de dispersion saltatoire à grande distance. A travers deux sous-thèmes, nous chercherons à répondre aux questions suivantes : (i) Comment le potentiel de dispersion des propagules est affecté par les conditions hydro-dynamiques et les caractéristiques biologiques de l'espèce ? (ii) quelle est la relation entre cette dispersion potentielle et la dispersion efficace (i.e. réalisée) ? (iii) Comment cette relation est-elle modulée par la courantologie et le paysage ? (iv) Peut-on proposer des modèles de distribution des distances de dispersion à micro-échelle (intra-baie ou intra-site) ?

a. Appréhender les capacités de dispersion par des modèles couplés physique-biologie à petite échelle

Des modèles hydrodynamiques incorporant différents paramètres biologiques (ex. durée de vie pélagique, fécondité etc.) seront utilisés ou développés au sein d'une baie ou d'une région. Ce type d'approche a déjà été réalisé partiellement dans le cadre des programmes PNEC Chantier « Baie du Mont Saint Michel » et INVABIO sur l'espèce *C. fornicata* à l'échelle du Golfe Normand-Breton (Viard et al. 2006) et de la Manche Occidentale (Dupont et al. sous-presse) ou sur le modèle polychète en Manche (Barnay et al. 2003; Ellien et al. 2004). Alors que les modèles précédents ont fortement mis l'accent sur la composante hydrodynamique, ce type d'approche se poursuivra en développant leur composante biologique. Nous nous intéresserons en particulier à *C. fornicata* en Baie de Morlaix en prenant en compte des mailles beaucoup plus petites (collab. P. Lazure IFREMER Brest) ainsi qu'à l'espèce patrimoniale *Sabellaria alveolata* dans le golfe Normand-Breton (thèse de Sakina Ayata).

b. Quantifier la dispersion réalisée de façon indirecte par les flux de gènes

Même quand ils sont extrêmement fins, les modèles couplés physique-biologie ne rendent compte que d'un potentiel de dispersion et ne permettent pas de prendre en compte l'étape du recrutement des individus contribuant effectivement à la dynamique démographique de la population benthique. Dans ce contexte, les approches de génétique des populations offrent des outils performants pour analyser le degré de connectivité des populations en parallèle des études par modélisation (Palumbi 2003; Cowen et al. 2006; Dupont et al. sous-presse). Nous utiliserons de telles approches dans le but d'étudier (i) l'origine d'individus nouvellement établis (ex. post-larves fixées, jeunes sporophytes), (ii) la relation entre dynamique de recrutement et diversité génétique des populations au cours du temps, (iii) le degré de connectivité effective entre populations et (iv) les patrons d'expansion locaux. Une attention particulière sera portée sur les espèces introduites et/ou invasives pour lesquelles il existe une forte interaction entre processus naturels et processus anthropique, ces derniers pouvant être à l'origine d'une mise en contact de « pools » génétiques différenciés dans leur aire naturelle (Voisin et al. 2005; Simon-Bouhet et al. 2006; Roman & Darling 2007) et d'événements de dispersion à longue-distance qui ont

d'importantes conséquences sur les patrons d'expansion (Kinlan et al. 2005; Trakhtenbrot et al. 2005). Par exemple, dans le cadre du projet ANR Ecokelp, des analyses génétiques spatiales à micro-échelle seront conduites chez *U. pinnatifida* (thèse D. Grulois ; projet ANR Ecokelp) pour analyser les patrons d'expansion locaux de cette espèce invasive. Par ailleurs, chez les espèces introduites, la relation dispersion/diversité/adaptation forme un tryptique particulièrement intéressant pour comprendre comment ces espèces peuvent s'installer de façon durable: ce tryptique fait l'objet d'un projet sur des modèles « invertébrés » en préparation (projet MARINESCAN, coord. S. Lapègue).

Thème 3 : Diversité & Communauté

Participants : Eric Thiébaud, Thierry Comtet, Franck Gentil, Frédérique Viard, Jihane Trigui (D), Sakina Ayata (D)

Le thème 3 se propose d'intégrer aux études des relations entre dispersion et diversité une dimension spatio-temporelle plus large. Le point majeur structurant ce thème est le rôle de la dispersion dans la structure et l'évolution des communautés. Notre intérêt pour cette question est basé en grande partie sur un constat: la pointe bretonne représente une zone tout à fait originale en tant que zone de transition entre deux provinces biogéographiques majeures du Nord-Est Atlantique, les provinces lusitaniennes et boréales (Cox & Moore 2000). Dans le NE Atlantique, des études récentes effectuées dans le cadre du PNEC ont permis de révéler un point de rupture phylogéographique entre ces 2 provinces : les divergences génétiques observées de part et d'autre de la Mer d'Iroise suggèrent l'existence de sous-espèces, voire d'espèces cryptiques, pour différents invertébrés à cycle benthopélagique (Jolly et al. 2005; Jolly et al. 2006 ; Muths et al. 2006). Par ailleurs, ces zones de transition correspondent souvent à des régions présentant une circulation océanique complexe susceptible d'altérer les capacités de dispersion des organismes et de contraindre leur distribution. Ainsi, Gaylord & Gaines (2000) ont suggéré que la circulation le long des côtes californiennes pourrait expliquer la séparation entre les provinces californienne et orégonienne, indépendamment de la température. Comprendre le rôle des processus de dispersion dans le maintien d'une barrière biogéographique et dans l'évolution possible de la distribution de la biodiversité marine côtière implique ainsi d'identifier les échelles spatiales auxquelles se réalise la dissémination des larves sous différentes contraintes hydroclimatiques présentes ou futures. Autour de ce thème, 3 objectifs dont les 2 premiers font l'objet d'un projet EC2CO accepté (resp. E. Thiébaud) seront poursuivis :

a. Etudier les relations entre dispersion, distributions larvaires et structures hydrologiques à méso-échelle

Un modèle couplé biologie-physique de dispersion larvaire dans la zone de transition biogéographique Manche-Atlantique sera développé. Le modèle simulera la dispersion des larves selon une procédure individu-centré en s'appuyant sur les champs de courant issus du code de calcul Mars-3D appliqué au Golfe de Gascogne et à la Manche (collab. P. Lazure). Il s'agira alors d'évaluer les caractéristiques hydrodynamiques et les traits d'histoire de vie des espèces propices ou non à des transferts de larves entre provinces biogéographiques dans un contexte de changement climatique.

En parallèle, les structures hydrologiques à méso-échelle (plumes d'estuaire, fronts, upwelling) seront mises en regard des patrons de distribution du méroplancton. Cet objectif sera tout d'abord poursuivi dans la zone côtière du sud de la Bretagne, entre la baie de Douarnenez et l'estuaire de la Loire, sur le modèle polychète dans le but de valider les résultats issus de la modélisation. La reconnaissance des larves s'avérant une tâche ardue et souvent limitée à des niveaux taxonomiques élevés (genre ou famille), nous serons amenés à poursuivre les recherches de nouveaux outils d'identification larvaire. Des résultats très encourageant ont été récemment obtenus par des techniques d'hybridation in situ (Le Goff et al. 2007). Par ailleurs, des techniques de séquençage et d'utilisation des approches de type « code-barre génétique » représentent une voie alternative dont l'exploration sera poursuivie (projet intégré au ReX MGE).

b. Evolution de la structure des peuplements macro-benthiques des sables fins en Manche occidentale

En baie de Morlaix, deux peuplements font l'objet d'un suivi à long terme depuis 1977. Avec pratiquement 30 années de suivi, il devient maintenant possible de quantifier l'impact potentiel de la variabilité du climat sur les écosystèmes benthiques de la Manche occidentale, sachant que le régime climatique dans cette région a subi deux changements de grande magnitude à la fin des années 1980 et 1990, avec de profondes répercussions sur les écosystèmes de la mer du Nord (Beaugrand 2004; Weijerman et al. 2005). De nouvelles approches méthodologiques et statistiques seront développées (collab G. Beaugrand). Elles utiliseront à la fois les espèces abondantes et les espèces rares, souvent plus informatives sur l'évolution du système, et reposeront sur une nouvelle méthode de sélection des espèces en fonction de l'information qu'elles apportent à l'évolution globale d'un écosystème (Ibanez & Beaugrand soumis).

c. En perspective : Relations diversité des populations-diversité des communautés

L'étude des schémas de dispersion efficace ou potentielle nécessite une forte prise en compte du paysage (cf thème 2) mais également des communautés. En effet, la dispersion en contribuant à l'installation de migrants dans un habitat donné est susceptible de modifier les relations inter-spécifiques au sein de la communauté. La similitude entre la théorie neutraliste de la génétique des populations et les descripteurs des communautés (Hubbell 2001) est un des socles à l'émergence de la discipline nommée « génétique des communautés » (Hu et al. 2006). Nous souhaitons pouvoir dans l'avenir développer de telles approches en milieu côtier en intégrant les résultats acquis dans les thèmes 2 et 3. Ce dernier objectif est cependant encore dans une phase prospective et sa réalisation dépendra notamment de l'arrivée de nouvelles compétences en écologie évolutive des communautés dans notre équipe (cf Demandes en personnel McF).

Bilan des collaborations et programmes (en cours, soumis, en préparation)

Collaborateurs (nom, structure)	Thème	Programmes (type, titre, porteur, fin date)
SBR		
M. Valero	Dispersion/recrutement des lamineux	ANR Ecokelp (M. Valero, 2009) ; Programme WAKLIFE (en évaluation étape 2; resp F. Viard)
D. Jollivet & A. Tanguy	Dispersion chez les espèces hydrothermales & dévelpt d'outils génomiques	ANR DeepOases (D. Desbruyères, 2009)
P. Riera & D. Davoult	Utilisation isotopes stables & Structure comm. benthiques	ANR Ecokelp (M. Valero, 2009)
National		
S. Lapegue (Ifremer La Tremblade)	Scan génomique pour l'étude d'invertébrés	MARINESCAN (en prep)
P. Lazure (Ifremer Brest)	Développement de modèle physique-biologie	EC2CO (resp. E. Thiébaud, 2009)
J.C. Dauvin & G. Beaugrand (Wimereux)	Séries benthiques à long terme	EC2CO (resp. E. Thiébaud, 2009)
C. Paillard (UBO-IUEM)	Interactions pathogènes hôte (contexte Esp. Introduite)	IDEAS (en preparation; resp. C. Paillard)
P. Garcia (U. la Rochelle)	Espèces invasives	MARINESCAN (en preparation)
C. Ellien (MNHN)	Modèle de dispersion larvaire	EC2CO (resp. E. Thiébaud, 2009)
International		
CASEB Chili (M. Fernandez, JC Castilla)	Phylogéographie, dispersion et reproduction des invertébrés	LIA DIAMS (J. Correa, M. Valero)
J. Pechenik (U. Tufts, Boston)	Cycle de vie dans le genre <i>Crepidula</i>	ANR MIRAGE (F. Viard, fin 2008)
T. Crowe	Dynamique des populations et communautés	Projet Européen DYNAMO (en évaluation ; étape 2)
J. Bishop (U. Plymouth)	Expansion / installation d'ascidies invasives	ReX MGE (C. Boyen ; 2008)

Implications dans des groupements de recherche ou programme inter-laboratoires

- Groupement de Recherche ECCHIS (resp. D. Desbruyères): participants C. Daguin-Thiébaud, E. Thiébaud & F. Viard
- Laboratoire International Associé DIAMS (resp. J. Correa, M. Valero) : participants : T. Comtet, C. Daguin-Thiébaud, E. Thiébaud & F. Viard

Masters et Ecole doctorale de rattachement

L'équipe Div&Co est très fortement impliquée dans la formation universitaire de l'UPMC au niveau du master 'Sciences et Technologies de l'UPMC'. Eric Thiébaud est responsable de la spécialité 'Océanographie et Environnements Marins' de la mention 'Sciences de l'Univers, Environnement, Ecologie' qui draine un flux moyen de 60 à 80 étudiants par an. Les enseignants chercheurs et chercheurs de l'équipe sont également responsables ou co-responsables de différentes unités d'enseignements de master qui se déroulent sur le campus ou à la Station Biologique de Roscoff et qui concernent les spécialités 'Océanographie et Environnements Marins' ainsi que 'Ecologie Biodiversité et Evolution (EBE)': MU402 'Dynamique des populations marines', MU412 'Structure des écosystèmes littoraux et côtiers', NU206 'Dynamique des populations d'invertébrés benthiques marins', NU222 'Biodiversité marine et conservation', NU 908 'Ecologie moléculaire et génétique évolutive des populations marines'..

Les membres de l'équipe sont également fortement impliqués en tant que participants ou co-responsables d'enseignements internationaux de niveau master, doctorat et post-doctorat : enseignement Erasmus 'Zoologie et écologie marine', enseignements dans le cadre du programme ESTEAM (programme Site Marie-Curie, Roscoff), 3 écoles d'été proposées dans le cadre du réseau d'excellence MGE. Les deux chercheurs CNRS de l'équipe ont un volume horaire de participation aux enseignements universitaires représentant environ 55 H/an.

L'équipe est rattachée à l'Ecole Doctorale « Diversité du Vivant » (UPMC) avec une HDR (F. Viard). La soutenance d'une seconde HDR (E. Thiébaud) est prévue à l'horizon 2008-2009.

Expression des Besoins

Equipement

L'approche intégrative proposée par l'équipe Div&Co nous semble une richesse pour appréhender une thématique aussi complexe que celle de la dispersion en milieu côtier. Le corollaire de cette approche intégrée est la nécessité d'avoir accès à des équipements et infrastructures diversifiées. La restructuration de l'UMR AD2M impliquera une phase transitoire de partage des moyens et de la mise en place de plateformes communes (exemple : plateforme de génotypage partagée avec l'équipe BEDIV & l'équipe GAME). Les séquenceurs de type Li-Cor sont un équipement critique pour la mise en œuvre des travaux de l'équipe. Les deux séquenceurs actuels ayant plus de 6 ans d'existence, le remplacement d'au moins l'un d'entre eux s'avère une priorité. Nous souhaitons également nous doter d'un parc d'appareils optiques (loupe binoculaire, microscope équipés d'appareils photo et vidéos) d'un usage quotidien pour l'équipe.

Personnels

Deux points sont critiques pour le devenir de l'équipe Div&Co :

(1) la nécessité de renouveler les compétences en écologie des communautés à la suite du départ à la retraite prochain (2009-2010) de Franck Gentil (MCF UPMC). Ces compétences sont cruciales (i) pour les enseignements menés à la Station Biologique de Roscoff et sur le campus de l'UPMC en écologie et systématique des invertébrés marins et (ii) pour le volet d'écologie des communautés proposé par l'équipe Div&Co dans la perspective de pérenniser les études en cours (notamment les analyses des suivis à long-terme) ; ce poste pourrait également venir en appui du développement d'un axe en génétique des communautés côtières. Un poste de Maître de conférences en renouvellement du départ de Franck Gentil est ainsi demandé auprès de l'UPMC.

(2) En écho au bilan de l'équipe EGPM, rappelons que la situation est très tendue concernant les postes ITA ; le soutien technique aux quatre chercheurs de l'équipe Div&Co se limite ainsi à 50% d'un poste d'IE (Claire Daguin-Thiébaud) ; ce soutien est malheureusement insuffisant pour faire face à la diversité d'approches menées au sein de l'équipe (études sur le terrain,

expérimentations en laboratoires, biologie moléculaire) mais également pour la gestion technique quotidienne du laboratoire (encadrement technique de stagiaires, respect des procédures en biologie moléculaire, veille technologique). Par ailleurs, Claire Daguin-Thiébaud est également chargée de la plateforme commune de génotypage. Nous espérons que l'obtention d'un poste supplémentaire en biologie moléculaire & génotypage demandé depuis plusieurs années par l'UMR nous permettra une réallocation d'un poste à 100% en biologie moléculaire et génétique des populations au sein de l'équipe Div&Co. Par ailleurs, compte-tenu de la diversité des approches menées et de la part particulièrement importante des expériences sur le terrain, de suivis et d'élevage/croisements en laboratoire pour les 4 chercheurs de l'équipe, un poste d'assistant-ingénieur en technique biologique s'avère essentiel à court terme.

Références bibliographiques

Note : Les références des membres de l'équipe Div&Co sont surlignées en gras. La liste complète des publications des membres de l'équipe sur la période 2004-2007 est présentée dans les documents « bilans » des équipes EGPM et EB

Barnay, A.-S., C. Ellien, F. Gentil & E. Thiébaud (2003). "A model study on variations in larval supply: are populations of the polychaete *Owenia fusiformis* in the English Channel open or closed? ." *Helgoland Marine Research* **56: 229-237.**

Beaugrand, G. (2004). "The North Sea regime shift: evidence, causes, mechanisms and consequences." *Prog. Oceanogr.* **60**: 245-262.

Bos, O. G., I. E. Hendriks, M. Strasser, P. Dolmer & P. Kamermans (2006). "Estimation of food limitation of bivalve larvae in coastal waters of north-western Europe." *Journal of Sea Research* **55**(3): 191-206.

Botsford, L. W., A. Hastings & S. D. Gaines (2001). "Dependence of sustainability on the configuration of marine reserves and larval dispersal distance." *Ecology Letters* **4**: 144-150.

Carlton, J. T. (2000). Global change and biological invasions in the oceans. *Invasive species in a changing world*. H. A. Mooney & R. J. Hobbs. Washington, USA, Island Press: 31-53.

Chapin, F. S. I., E. S. Zavaleta, V. T. Eviner, R. L. Naylor, P. M. Vitousek, H. L. Reynolds, D. U. Hopper, S. Lavorel, O. E. Sala, S. E. Hobbie, M. C. Mack & S. Diaz (2000). "Consequences of changing biodiversity." *Nature* **405**(6783): 234-242.

Clare, A. S. & K. Matsumura (2000). "Nature and perception of barnacle settlement pheromones." *Biofouling* **15**(1-3): 57-71.

Clobert, J., E. Danchin, A. A. Dhondt & J. D. Nichols, Eds. (2001). *Dispersal*. Oxford, Oxford University Press.

Connolly, S. R. & J. Roughgarden (1998). "A latitudinal gradient in Northeast Pacific intertidal community structure: evidence for an oceanographically based synthesis of marine community theory." *The American Naturalist* **151**(4): 311-326.

Cowen, R. K., K. M. M. Lwiza, S. Sponaugle, C. B. Paris & D. B. Olson (2000). "Connectivity of Marine Populations: Open or Closed?" *Science* **287**: 857-859.

Cowen, R. K., C. B. Paris & A. Srinivasan (2006). "Scaling of connectivity in marine populations." *Science* **311**: 522-527.

Cox, B. C. & P. D. Moore (2000). *Biogeography: An ecological and evolutionary approach*. London, Blackwell Scientific Publications.

Duarte, C. M. (2007). "Marine ecology warms up to theory." *Trends in Ecology and Evolution* **22**(7): 331-333.

Dubois, S., T. Comtet, C. Retière & E. Thiébaud (sous-presse). "Distribution and retention of *Sabellaria alveolata* (Polychaeta : Sabellariidae) in the Bay of Mont-Saint-Michel, France." *Marine Ecology Progress Series*.

Dupont, L., C. Ellien & F. Viard (sous-presse). "Microsatellite data and larval-dispersal model reveal subtle limits to gene flow within a highly dispersive marine invertebrate, the exotic gastropod *Crepidula fornicata*." *Marine Ecology Progress Series*.

Dupont, L., J. Richard, Y. M. Paulet, G. Thouzeau & F. Viard (2006). "Gregariousness and protandry promote reproductive insurance in the invasive gastropod *Crepidula fornicata*: evidence from assignment of larval paternity." *Molecular Ecology* **15(10): 3009-3021.**

Ellien, C., E. Thiébaud, F. Dumas, J. C. Salomon & P. Nival (2004). "A modelling study of the respective role of hydrodynamic processes and larval mortality on larval dispersal and recruitment of benthic invertebrates: example of *Pectinaria koreni* (Annelida: Polychaeta) in the Bay of Seine (English Channel)." *Journal of Plankton Research* **26(2): 117-132.**

Galindo, H. A., D. B. Olson & P. S.R. (2006). "Genetics: a coupled oceanographic-genetic model predicts population structure of Caribbean corals." *Current Biology* **16**(16): 1622-1626.

Gaylord, B. & S. D. Gaines (2000). "Temperature or transport? Range limits in marine species mediated solely by flow." *American Naturalist* **155**: 769-789.

- Grosberg, R. K. & D. R. Levitan (1992). "For adults only? Supply-side ecology and the history of larval biology." *Trends in Ecology and Evolution* **7**(4): 130-133.
- Hadfield, M. G. (1998). "Research on settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae: past, present and future." *Biofouling* **12**(1-3): 9-29.
- Hu, X.-S., F. He & S. P. Hubbell (2006). "Neutral theory in macroecology and population genetics." *Oikos* **113**: 548-556.
- Hubbell, S. P. (2001). *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography*. Princeton, USA, Princeton University Press.
- Hughes, T. P., D. R. Bellwood, C. Folke, R. S. Steneck & J. Wilson (2005). "New paradigms for supporting the resilience of marine ecosystems." *Trends in Ecology & Evolution* **20**(7): 380-386.
- Jolly, M. T., D. Jollivet, F. Gentil, E. Thiébaud & F. Viard (2005). "Sharp genetic break between Atlantic and English Channel populations of the polychaete *Pectinaria koreni*, along the North coast of France." *Heredity* **94**: 23-32.
- Jolly, M. T., F. Viard, F. Gentil, E. Thiébaud & D. Jollivet (2006). "Comparative phylogeography of two coastal polychaete tubeworms in North East Atlantic supports shared history and vicariant events." *Molecular Ecology* **15**: 1841-1855.
- Kinlan, B. P., S. D. Gaines & S. E. Lester (2005). "Propagule dispersal and the scales of marine community process." *Diversity and Distributions* **11**: 139-148.
- Kinlan, B. P. & A. Hastings (2005). Rates of population spread and geographic range expansion - What exotic species tell us? *Species invasions: insights into ecology, evolution and biogeography*. D. F. Sax, Stachowicz, J.J. & Gaines, S.D. Sunderland, Sinauer Associates Inc.: 381-419.
- Le Goff, M. C., A. D. Chipman & T. Comtet (2007). "In situ hybridization on whole larvae: a novel method for monitoring bivalve larvae." *Marine Ecology Progress Series* **343**: 161-172.
- Lester, S. E., B. I. Ruttenberg, S. D. Gaines & B. P. Kinlan (2007). "The relationship between dispersal ability and geographic range size." *Ecology Letters* **10**: on line.
- Levin, L. A. (2006). "Recent progress in understanding larval dispersal: new directions and digressions." *Integrative and Comparative Biology* **46**(3): 282-297.
- Muths, D., D. Davoult, F. Gentil & D. Jollivet (2006). "Incomplete cryptic speciation between intertidal and subtidal morphs of *Amphiura brachiata* (Echinodermata: Ophiuroidea) in the North Eastern Atlantic." *Molecular Ecology* **15**: 3303-3318.
- O'Connor, M. I., J. F. Bruno, S. D. Gaines, B. S. Halpern, S. E. Lester, B. P. Kinlan & J. M. Weiss (2007). "Temperature control of larval dispersal and the implications for marine ecology, evolution, and conservation." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **104**(4): 1266-1271.
- Palumbi, S. R. (2003). "Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves." *Ecological Applications* **13**(1): S146-S158.
- Pechenik, J. A. & G. M. Lima (1984). "Relationship between growth, differentiation and length of larval life for individually reared larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata*." *Biological Bulletin* **166**: 537-549.
- Roman, J. & J. A. Darling (2007). "Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions." *Trends in Ecology & Evolution* **22**(9): 454-464.
- Roughgarden, J., S. Gaines & H. Possingham (1988). "Recruitment dynamics in complex life cycles." *Science* **241**: 1460-1466.
- Simon-Bouhet, B., P. Garcia-Meunier & F. Viard (2006). "Multiple introductions promote range expansion of the mollusc *Cyclope neritea* (Nassariidae) in France: evidence from mitochondrial sequence data." *Molecular Ecology* **15**: 1699-1711.
- Taylor, M. S. & M. E. Hellberg (2003). "Genetic evidence for local retention of pelagic larvae in a Caribbean reef fish." *Science* **299**: 107-109.
- Toonen, R. J. & J. R. Pawlik (2001). "Foundations of gregariousness: a dispersal polymorphism among the planktonic larvae of a marine invertebrate." *Evolution* **55**(12): 2439-2454.
- Trakhtenbrot, A., R. Nathan, G. Perry & D. M. Richardson (2005). "The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation." *Diversity and Distributions* **11**: 173-181.
- Turelli, M., N. H. Barton & J. A. Coyne (2001). "Theory and speciation." *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 330-343.
- Viard, F., C. Ellien & L. Dupont (2006). "Dispersal ability and invasion success of *Crepidula fornicata* in a single gulf: insights from genetic markers and larval-dispersal models." *Helgoland Marine Research* **60**(2): 144-152.
- Voisin, M., C. Engel & F. Viard (2005). "Differential shuffling of native genetic diversity across introduced region in a brown alga: aquaculture vs. maritime traffic effects." *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **102**(15): 5432-5437.
- Weijerman, M., H. Lindeboom & A. F. Zuur (2005). "Regime shifts in marine ecosystems of the North Sea and Wadden Sea." *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **298**: 21-39.

Equipe

Biologie Évolutive et Diversité Marine

BEDIM

Responsable: Myriam Valero

Composition prévue en 2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
DESTOMBE Christophe	PR, HDR	TELLIER Florence	10/05-10/08
ROZE Denis	CR	NEIVA Joao	04/07-04/10
VALERO Myriam	DR, HDR	OPPLIGER Valeria	10/07-10/10
DAGUIN-THIEBAUT Claire	IE, 50%	1 ou 2 CDDs ANR EcoKelp	01/08-12/09

Thématique

La thématique de l'équipe concerne l'étude de la diversité des traits d'histoire de vie chez les algues, afin de comprendre comment cette diversité (qu'on peut observer aux niveaux intra et interspécifique) a pu se mettre en place, et quelles en sont les conséquences sur l'évolution des espèces.

Notre équipe cherche à étudier l'évolution des mécanismes qui génèrent de la diversité biologique (comme la reproduction sexuée) ainsi qu'à comprendre le maintien de cette diversité, à l'aide d'une approche à la fois théorique et expérimentale. Cette thématique, qui se situe à l'interface entre écologie et évolution, repose sur des recherches d'écologie expérimentale au laboratoire et en milieu naturel, des suivis démographiques sur le terrain et des études de génétique des populations. Elle fait appel à des outils de biologie moléculaire et de modélisation mathématique.

La biodiversité représente aujourd'hui un enjeu scientifique, social, économique et politique considérable. Aussi, outre une forte implication dans la recherche fondamentale, certains de nos projets de recherche abordent des questions afférentes au développement durable (en particulier, la question de l'effet du changement climatique) et se situent en interaction avec les exploitants et les gestionnaires des ressources biologiques.

Plus spécifiquement, les recherches développées au sein de l'équipe seront centrées sur :

- Les questions relatives à l'évolution de la reproduction sexuée et à ses conséquences : Il s'agit de tester les différentes théories sur l'évolution du sexe et des "épiphénomènes" de la sexualité, correspondant à différents aspects du cycle sexué (anisogamie, mécanisme de rencontre des gamètes, parthénogénèse géographique, systèmes de reproduction, niveaux de ploïdie...).
- Les questions liées à l'hétérogénéité spatio-temporelle de l'environnement et à ses conséquences sur l'adaptation locale. Il s'agit ici d'étudier l'impact de l'environnement sur l'évolution des traits d'histoire de vie et de comprendre les limites évolutive et écologique de l'adaptation d'une espèce.

Ces questions sont abordées chez les algues marines car on y rencontre une grande variété dans les traits liés à la reproduction et au cycle de vie. En particulier, ce sont les seuls organismes pluricellulaires présentant tous les intermédiaires entre système de croisement isogame (avec

gamètes de même taille) et oogame (dimorphisme gamétique extrême), et elles représentent donc un matériel de choix pour étudier l'évolution de l'anisogamie. Par ailleurs, les algues sont le seul groupe dans lequel on peut observer les trois grands types de cycle sexué (haploïde, diploïde, et haploïde-diploïde). Différents groupes d'espèces proches présentent des différences importantes dans la longueur relative des phases haploïde et diploïde, démontrant que l'évolution des cycles peut être relativement rapide. De plus, contrairement à une idée communément admise sur le milieu marin, les populations d'algues présentent souvent une structuration spatiale très marquée, due à de faibles distances de dispersion des spores et des gamètes, et vivent dans des milieux caractérisés par une forte variabilité environnementale (variations de température et de salinité dans la zone de balancement des marées, par exemple). En conséquence, la structuration spatiale et l'hétérogénéité de l'habitat représentent des facteurs qui jouent probablement un rôle important dans l'évolution des populations d'algues. Finalement, la plupart des modèles biologiques choisis sont des espèces cultivées ou exploitées ce qui permet de développer des interactions plus importantes avec les partenaires locaux impliqués dans la gestion, la valorisation ou l'exploitation des ressources marines (Chambre syndicale des algues marines, réserve des sept îles....). Le choix des espèces cibles est donc effectué selon deux logiques permettant à la fois d'aborder les questions fondamentales et de répondre aux attentes sociétales liées à la question du maintien de la biodiversité.

Projet scientifique concis 2009-2012

Thème 1 : Evolution du sexe et ses conséquences

Les algues marines sont caractérisées par une formidable diversité de cycles de vie et de modes de reproduction. A l'heure actuelle, les mécanismes évolutifs à l'origine d'une telle diversité restent peu compris. Nous nous proposons d'étudier ces mécanismes par des méthodes théoriques, comparatives et expérimentales.

Approche théorique (Denis Roze)

L'objectif majeur de l'approche théorique est de comprendre les effets de la structure géographique des populations (degré de fragmentation de l'habitat, importance des flux géniques) et de l'hétérogénéité environnementale sur l'évolution de différents traits liés au cycle de vie, et de générer des prédictions qui pourront être testées par des études comparatives et expérimentales.

- **Mise en place d'un cadre théorique général.** Les effets de la structure spatiale des populations et de l'hétérogénéité environnementale sur l'évolution des systèmes de reproduction restent peu connus, en partie du fait du manque d'outils théoriques appropriés pour étudier ces effets. Au cours des dernières années, Denis Roze (en collaboration avec François Rousset, Université Montpellier II) a mis en place un cadre théorique permettant de construire des modèles représentant l'évolution d'un nombre arbitraire de gènes, dans des populations structurées dans l'espace. Ces méthodes (qui continuent d'être élaborées) ont déjà permis de traiter différentes questions relatives à l'évolution de la dispersion (Roze et Rousset 2005), et à l'évolution de comportements sociaux impliquant une reconnaissance entre individus apparentés (Rousset et Roze 2007). Elles seront appliquées aux questions suivantes.
- **L'évolution du sexe.** La géographie et la variabilité des habitats semblent jouer un rôle important dans l'évolution du mode de reproduction de différentes espèces. Ainsi, de nombreux cas de parthénogénèse géographique ont été décrits (y compris chez les algues), dans lesquels les individus occupant des habitats marginaux (par exemple situés à de hautes latitudes ou altitudes) se reproduisent de manière asexuée, tandis que les autres individus se reproduisent de manière sexuée. Les habitats marginaux sont souvent caractérisés par des fluctuations importantes de densité d'individus, ainsi que par des extinctions fréquentes de populations. Haag et Roze (2007) ont montré récemment que

dans de telles conditions, une population sexuée peut souffrir davantage de la présence de mutations délétères qu'une population asexuée. Cette étude sera poursuivie par des modèles étudiant l'évolution du mode de reproduction, en collaboration avec Christoph Haag (Université d'Edimbourg).

- **L'évolution des "épiphénomènes" de la sexualité.** Différents aspects de l'évolution du cycle sexué seront étudiés : évolution de l'anisogamie (en collaboration avec Thomas Lenormand, CEFE Montpellier), évolution des niveaux de ploïdie (durées relatives des phases haploïde et diploïde du cycle de vie), et évolution des systèmes de croisement (autogamie vs. allogamie). Ici encore, les études se focaliseront sur les effets de la structure géographique des populations et de la variabilité de l'environnement sur l'évolution de ces différents traits.

Approche comparative (Christophe Destombe, Denis Roze et Myriam Valero)

Mise en place d'une base de données bibliographiques rassemblant, pour chaque espèce d'algue, les informations disponibles sur le degré d'anisogamie, le type de cycle de vie (haploïde, diploïde, ou haploïde-diploïde), le système de croisement, le type d'habitat, degré de structure des populations et autres informations. Cette base de données sera tout d'abord mise en place sur les Phaeophyceae. Une réflexion est en cours dans le cadre de la thèse d'Emmanuelle Billard et des contacts ont été pris avec Ester Serrao (Université d'Algarve, Portugal) et seront pris avec Bruno DeReviers (MNHN, Paris). Cette base de données sera ensuite utilisée afin de procéder à des analyses comparatives, qui tiendront compte des progrès récents sur la phylogénie des algues, et qui permettront par exemple de déterminer si certains traits du système de reproduction tendent à être associées à certains types d'habitats, ou certaines variables environnementales. La même approche sera suivie sur les Rhodophyta. De plus, des collaborations existent au sein de l'UMR avec l'équipe de Colomban de Vargas dans laquelle une autre base de données est en cours sur les caractéristiques des traits d'histoire de vie des microalgues et en particulier sur le groupe des Coccolithophores (thèse de Miguel Frada).

Approche expérimentale (Christophe Destombe, Claire Daguin-Thiebault et Myriam Valero)

L'objectif majeur de l'approche expérimentale est de tester les prédictions théoriques sur l'évolution du sexe et ses conséquences. Il s'agira en particulier de comprendre les relations entre hétérogénéité environnementale, structure géographique et diversité des traits d'histoire de vie liés aux systèmes de reproduction et aux cycles de reproduction haplo-diploïdes.

Ces approches expérimentales seront développées sur quelques espèces modèles cibles initialement choisies en fonction de leur trait d'histoire de vie et pour lesquelles l'équipe possède une bonne expertise. Il s'agit en particulier de l'algue rouge *Gracilaria gracilis*, des algues brunes du genre *Fucus* (*F. vesiculosus* et *spiralis*) ; des « kelps » (*Laminaria digitata*, *Saccorhiza polyschides*, *Lessonia nigrescens*). A ces modèles viendront s'ajouter deux nouveaux modèles biologiques : l'algue rouge *Chondrus crispus* et l'algue brune *Ectocarpus siliculosus*, qui sont des espèces dont le cycle est parfaitement maîtrisé dans les conditions de laboratoire et dont le génome est en cours de séquençage à Roscoff (collaborations avec les équipes de Mark Cock, Philippe Potin et Catherine Boyen de l'UMR 7139).

- **Parthénogénèse géographique :** de nombreux cas de parthénogénèse sont été décrits chez les algues brunes et en particulier chez les kelps en culture *in vitro* (Druel et al., 2005). Il s'agira de tester l'existence de parthénogénèse géographique (1) en comparant les populations situées au centre et en limite d'aire et (2) en comparant populations marginales et populations centrales. La première approche sera menée sur différentes espèces de Laminaires, le long des côtes Atlantiques et de la Manche, et en particulier en Bretagne puisque cette région correspond à la limite sud de l'aire de distribution de *L. digitata*, limite nord pour *L. ochroleuca*, et centre de la distribution pour *L. hyperborea*). La deuxième approche sera menée le long de la côte chilienne sur les populations de *Lessonia nigrescens*, où on a pu mettre en évidence et suivre depuis quelques années des fluctuations importantes de la densité des populations dues aux fluctuations climatiques (el Niño). Ces deux approches seront menées dans le cadre de l'ANR ECOKELP et donc en collaboration avec deux équipes de l'UMR (équipes Davoult et Viard), le service Mer et observation de la FR ainsi qu'avec Sylvain Faugeton (CASEB, Université Pontificale

Catholique du Chili). L'importance de la parthénogénèse sera analysée à la fois par des outils de la génétique des populations ainsi que des approches expérimentales au laboratoire (thèses de Florence Tellier et de Valeria Oppliger en cours réalisées en cotutelle entre UPMC et PucCh dans le cadre du LIA DIAMS).

- **Evolution des niveaux de ploïdie** : Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer le maintien des cycles haplo-diploïdes (Valero et al. 1992, Mable et Otto 1998). Une des hypothèses qui n'a pas encore clairement été vérifiée est le rôle différent des deux types d'individus dans le cycle. Cette question qui est particulièrement importante dans les cycles où le sporophyte et le gamétophyte ont la même morphologie, sera abordée d'une part sur l'algue brune à cycle isomorphe *Ectocarpus siliculosus* et les algues rouges à cycle isomorphe *Chondrus crispus* et *Gracilaria gracilis*.
 - ↳ Pour l'algue brune *Ectocarpus siliculosus* à cycle isomorphe, il s'agira de répondre aux questions suivantes : Quelle est la fréquence d'individus haploïdes et diploïdes dans les populations naturelles ? et est-ce qu'elle varie dans le temps et dans l'espace ? peut-on mettre en évidence une variation du niveau de ploïdie en relation avec des changements environnementaux ? (nouveau projet qui sera développé en collaboration avec l'équipe de Mark Cock, UMR 7139)
 - ↳ Pour *Chondrus crispus*, le cycle isomorphe présente des différences dans la composition biochimique des parois entre les phases haploïde et diploïde. Cette différence pourrait jouer un rôle dans la défense aux herbivores et aux parasites. En conséquence, une phase pourrait être plus susceptible aux parasites que l'autre ce qui pourrait expliquer le maintien du cycle. (nouveau projet qui sera développé en collaboration avec l'équipe de Catherine Boyen, UMR 7139, contacts pris avec Steve Dudgeon, California State University Northridge, USA)
 - ↳ Pour *Gracilaria gracilis*, une différence dans les modalités de dispersion des spores haploïdes et diploïdes pourrait jouer un rôle dans le maintien du cycle haplo-diploïde. Les données sur la dispersion et le recrutement obtenues à partir de suivis démographiques et d'analyse de structure génétique des populations sont en cours de modélisation par une approche de type réseau afin de reconstituer et de comparer la forme des courbes de dispersion entre spores haploïdes et diploïdes (Collaboration avec Fabio Labra, CASEB, PucCH, LIA-DIAMS).
- **Evolution des systèmes de reproduction** : Cette question sera abordée en étudiant la reproduction chez *Ectocarpus siliculosus* et Laminaires, *Chondrus crispus* et également chez une microalgue *Alexandrium*
 - ↳ L'objectif est d'étudier la reproduction en populations naturelles chez *Ectocarpus siliculosus* dont le cycle est particulièrement bien connu en culture, avec possibilité de reproduction asexuée à la fois dans la phase haploïde et diploïde. Par contre on ne connaît rien sur la biologie de cette espèce en milieu naturelle. Est-ce que le système de reproduction varie dans le temps et/ou dans l'espace ? En d'autres termes, est-ce que le passage de la reproduction asexuée vers reproduction sexuée est déclenché par des changements environnementaux (comme par exemple le froid chez les pucerons, Simon et al., 2002), et lesquels ? Ce nouveau projet sera développé en collaboration avec l'équipe de Mark Cock (UMR 7139)
 - ↳ Chez *Chondrus crispus*, le sex-ratio en populations naturelles est biaisé en faveur des femelles et on peut se demander quels sont les mécanismes qui pourraient expliquer l'excès de femelles ? (Master de Stacy Krueger, California State University Northridge, USA)
 - ↳ Enfin, chez le dinoflagellé *Alexandrium minutum* responsable des blooms toxiques, on essaiera d'estimer l'importance de la reproduction sexuée dans les phénomènes des blooms et ceci en déterminant la diversité génotypique en utilisant les outils de génétique des populations et en étudiant la biologie de la reproduction en culture *in vitro* en collaboration avec Laure Guillou de l'équipe Diversité du Plancton Océanique de l'UMR 7144 (ANR AQUAPARADOX et projet ECOS soumis)

Thème 2 : Ecologie de la reproduction

Responsables: Myriam Valero et Christophe Destombe

La question ici est d'étudier comment se fait la fécondation chez des organismes sessiles dans un milieu dispersif comme la mer. En effet, de nombreuses questions se posent sur les mécanismes qui ont été mis en place pour maximiser le succès reproducteur chez ces espèces et leurs répercussions sur l'évolution des systèmes de reproduction (compétition entre mâles, polyandrie, système d'incompatibilités..., voir pour revue : Bishop et Pemberton, 2006). Cette question sera abordée en combinant des approches d'écologie expérimentale et de génétique des populations sur des modèles d'algues brunes (*Fucus spiralis*, *F. vesiculosus* et *F. serratus*) et rouge (*Gracilaria gracilis*).

- **Synchronie de la libération des gamètes** Ce projet vise à comprendre les rôles écologiques et évolutifs de la synchronie de la libération des gamètes sur les mécanismes d'hybridation et d'isolement reproducteur dans un complexe d'espèces de macro-algues brunes caractérisées par des systèmes de reproduction différents : les *Fucus* (*F. spiralis*, *F. vesiculosus* et *F. serratus*). Ce projet s'intègre s'inscrit dans le cadre d'une collaboration franco-portugaise de longue date, initiée depuis 2000, et correspond au travail de thèse de João Neiva en cotutelle (co-direction Myriam Valero, Université Paris VI, avec Ester Serrão, Universidade do Algarve, Portugal) par ailleurs, il s'intègre dans une problématique de recherche développée et soutenue par le ReX MarBef.
- **Dispersion et efficacité des gamètes mâles non-flagellés** : Chez les algues rouges, les gamètes mâles sont dépourvus de flagelle (spermaties) et la récente mise au point d'une méthode de marquage des spermaties a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives de recherche (Veyret, 2003). En particulier, la présence de mucilage sécrété par les gamètes mâles soulève de nombreuses questions quant à son rôle dans la dispersion et le succès de fécondation. D'autre part, il est maintenant possible de quantifier les gamètes mâles dans le milieu et il est envisageable par coloration différentielle en microscopie confocale d'observer directement les phénomènes de compétition entre mâles au niveau du trichogyne (extension du carpogone sur le gamète femelle à laquelle vient se fixer les gamètes mâles). Il s'agira donc ici d'une part de déterminer le rôle de ce mucilage lors de la rencontre des gamètes) et d'autre part de comparer la fitness des individus mâles en populations naturelles (analyse de paternité) avec les caractéristiques des gamètes mâles de chaque individu chez l'algue rouge *Gracilaria gracilis* (quantification de la présence de mucilage, longueur du mucilage etc..)

Thèmes transversaux

a. Phylogéographie et zones de transition

Etudes phylogéographiques en cours sur des deux zones de transition, celles des 30°S au Chili et celles de la Mer d'Iroise mises en place dans le cadre de l'équipe EGPM et du LIA DIAMS seront terminées et donneront lieu à des méta-analyses (comparaison des espèces chiliennes entre elles, des espèces européennes entre elles puis comparaison inter-continents)

- Collaborations intra-UMR avec les nouvelles équipes de Frédérique Viard, de Didier Jollivet et de Dominique Davoult.
- Collaborations internationales avec Chili (CASEB), Portugal (Université d'Algarve) ainsi que partenaires Rex-MarBef (GBIRM)

b. Changement global et gestion des ressources

Dans le cadre de l'ANR ECOKELP et du projet européen DYNAMO, l'objectif est ici est de prédire les effets du changement global sur la dynamique des écosystèmes marins et ses répercussions économiques et sociales sur la gestion des ressources en menant une approche pluridisciplinaire entre chercheurs des sciences humaines et des sciences de la vie.

- Collaborations intra-UMR avec les nouvelles équipes de Frédérique Viard, et de Dominique Davoult.

- Collaborations inter-UMR avec la FR2424 (SMO) et avec l'UMR 7139 (Philippe Potin)
- Collaborations avec des gestionnaires de parc (LPO, Réserve des 7 îles) et des industriels (DANISCO)
- Collaboration nationale avec le CEDEM de Brest (Denis Bailly), IFREMER de Brest (Pierre Arzel) et la Station Marine de Wimereux (François Gevaert)
- Collaborations internationales avec Chili (CASEB), Portugal (Université d'Algarve) ainsi que nouveaux partenaires dans le cadre du projet européen DYNAMO (soumis en Mai 2007)

c. Rôles des flux géniques et de l'adaptation aux métaux lourds

En liaison avec les approches menées dans le LIA DIAMS par Juan Correa (CASEB) et Philippe Potin (UMR 7139) sur les études de la tolérance au Cuivre chez *Ectocarpus*, le projet est de développer des approches de génétique et biologie des populations en complément des approches écophysiologiques et génomiques sur les mécanismes de la résistance.

Ce projet viendrait s'intégrer à ceux déjà en cours dans le cadre du LIA-DIAMS et du Rex Marine Genomics

References :

- Bishop, JDD & Pemberton, AJ. 2006. The third way: spermcast mating in sessile marine invertebrates. *Int. Comp. Biol.* 46: 398-406.
- Druehl, LD, Collins, JD, Lane, CE & Saunders, GW. 2005. An evaluation of methods used to assess intergeneric hybridization in Kelp using Pacific Laminariales (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 41: 250-262
- Haag, C.R. & Roze, D. 2007. Genetic load in sexual and asexual diploids : segregation, dominance and genetic drift. *Genetics* 176 : 1663-1678.
- Mable, B.K. & Otto, S.P. 1998. The evolution of life cycles with haploid and diploid phases. *BioEssays* 20 : 253-262.
- Rousset, F. & Roze, D. 2007. Constraints on the origin and maintenance of genetic kin recognition. *Evolution*, sous presse.
- Roze, D. & Rousset, F. 2005. Inbreeding depression and the evolution of dispersal rates : a multilocus model. *Am. Nat.* 166 : 708-721.
- Simon, JC, Rispe, C. & Sunnucks, P. 2002. Ecology and evolution of sex in aphids. *Trends Ecol. Evol.* 17: 34-39.
- Valero, M., Richerd, S., Perrot, V. & Destombe, C. 1992. Evolution of alternation of haploid and diploid phases in life-cycles. *Trends Ecol. Evol.* 7 : 25-29.
- Veyret M. 2003. *Analyse du succès reproducteur mâle chez l'algue rouge Gracilaria gracilis* DEA "Océanologie biologique et Environnement Marin", Univ. Paris VI.

Collaborations

Collaborations SBR

- Frédérique Viard, Didier Jollivet, Dominique Davoult, Laure Guillou, Colomban de Vargas de l'UMR 7144
- Mark Cock, Philippe Potin et Catherine Boyen de l'UMR 7139
- Laurent Lévêque, Service Mer et Observation de FR 1414

Collaborations nationales :

- François Rousset (Université Montpellier II) : développement d'outils mathématiques.
- Thomas Lenormand (CEFE-CNRS Montpellier) : modèles d'évolution de l'anisogamie.
- collaboration prévue dans le cadre du projet MARINESCAN (demande d'ANR Biodiversité en cours), coordonné par Sylvie Lapègue (IFREMER La Tremblade) : développement de modèles pour étudier l'effet d'événements sélectifs sur la diversité neutre, dans des population en expansion géographique.
- Denis Bailly (CEDEM, Univ.de Brest) : analyse des processus économiques et sociaux qui contribuent à réduire ou renforcer la durabilité des forêts de Laminaires (ECOKELP)
- Pierre Arzel (IFREMER de Brest) : sensibiliser les différents publics aux politiques de gestion de la ressource et de conservation de la biodiversité associée aux forêts de Laminaires (ECOKELP)

- François Gevaert (Station Marine de Wimereux, Univ. Lille 1) : approche ecophysiologique de la réponse des forêts de Laminaires aux changements globaux (ECOKELP)
- Collaborations avec des gestionnaires de parc (LPO, Réserve des 7 îles) et des industriels (DANISCO) dans le cadre de l'ANR ECOKELP pour diffuser les résultats auprès des gestionnaires et des industriels
- Bruno de Reviers (MNHN, Paris) : approche comparative de la reproduction chez les Phaeophyceae.

Collaborations internationales :

- Christoph Haag (University of Edinburgh) : modèles d'évolution du sexe (parthénogénèse géographique).
- Nick Barton (University of Edinburgh) : outils théoriques, évolution de la recombinaison.
- Laurent Lehmann (Stanford University) : modèles d'évolution en population structurée, sélection de parentèle.
- Ester Serrao (Université d'Algarve, Portugal) : écologie de la reproduction, évolution des systèmes de reproduction, phylogéographie comparée
- Sylvain Faugeron et Juan Correa (CASEB, Université Pontificale Catholique du Chili) : approche expérimentale, système de reproduction et phylogéographie
- Miriam Fernandez, Juan Carlos Castilla (CASEB, Université Pontificale Catholique du Chili) : phylogéographie comparée le long des côtes chiliennes
- Jeanine Olsen (Univ. Groningen) : phylogéographie comparée le long des côtes européennes
- Fabio Labra (CASEB, PucCH, LIA-DIAMS) : modélisation de la dispersion des spores haploïdes et diploïdes.
- Collaborations prévues avec Université de Los Lagos (Chili) dans le cadre du projet ECOS
- Collaboration envisagée avec Steve Dudgeon, (California State University Northridge, USA) : évolution du niveau de ploïdie

Masters et Ecole doctorale de rattachement

Master Science de l'Univers, Environnement, Ecologie UPMC

Master Biologie Evolutive et Ecologie, Montpellier II

Master Biodiversité et Ecosystèmes continentaux et marins, Université de Lille 1

Master Biologie spécialité éthologie écologie évolution, Université de Rennes 1

Master Biologie, Agronomie, Santé, spécialité Modélisation des Systèmes Biologiques, Université de Rennes 1

Master Ecologie, Ecologie Microbienne, Evolution, Université de Lyon I.

Master International: Biologie Intégrative UPMC/PUCCHILI/Université de Barcelone

Ecole Doctorale Diversité du Vivant, UPMC

Expression des Besoins

Equipement

Labo BM, séquençage et génotypage en série : demande labintel Licor

Salle de Culture et d'Expérimentation, armoires de culture : demande Labintel : armoires de culture

Equipement en microscopie et loupes binoculaires

Equipement en moyens de calcul

Personnels

AI Génotypage et séquençage en série (demande Labintel)

AI Expérimentation en milieu naturel (demande Labintel)

Equipe

Ecophysiologie des Invertébrés Marins en Milieux Extrêmes

EI2ME

Responsable: Franck ZAL

Composition prévue en 2008 / 2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
ANDERSEN Ann	MC	BOUTET Isabelle, P	2007-2009
LALLIER François	PR, HDR	DUTHEIL Delphine, P	2007-2010
MARY Jean	CR (délégation)		
ZAL Franck	CR, HDR	BRUNEAUX Matthieu, D	10/06 -
		de VILLARDI Constance, D	10/06
LE GUEN Dominique	TCS, 50%	Doctorant 1 Evol Hb	10/08-
		Doctorant 2 CIFRE	10/08-

Thématique

Notre équipe s'intéresse à l'écophysiologie d'invertébrés marins colonisant des environnements extrêmes (zones intertidales, sources hydrothermales, zones de suintement froid). Les animaux colonisant de tels milieux ont développé des processus physiologiques particuliers leur permettant de faire face à des conditions physico-chimiques extrêmes. Afin de comprendre ces adaptations particulières nous faisons appel à des études de physiologie comparée. Un thème central de nos travaux concerne l'identification des processus respiratoires de nos modèles biologiques (annélides et crustacés décapodes) qui évoluent souvent en milieux hypoxiques. Dans les milieux réduits, l'hypoxie est souvent corrélée à la présence de sulfure d'hydrogène, puissant toxique du métabolisme aérobie, mais élément chimique indispensable à la production primaire chimiosynthétique. L'identification de ces mécanismes est réalisée par une recherche « horizontale », c'est-à-dire à l'interface de différents domaines scientifiques. Nous utilisons à la fois des techniques de chimie supramoléculaire, de biochimie, de biologie moléculaire, de microscopie et d'immuno-histologie, sur des échantillons naturels ou après acclimatation expérimentale en milieu contrôlé, en utilisant des mésocosmes que nous avons développés au sein de l'équipe. Cette approche nous permet d'acquérir une vision intégrée des différents thèmes de recherche sur lesquels nous travaillons. Notre activité principale reste centrée sur les protéines respiratoires d'invertébrés marins dans une double optique d'écophysiologie respiratoire et d'évolution moléculaire. Ces travaux nous conduisent également à étudier plus en détail les mécanismes enzymatiques impliqués dans les défenses anti-oxydantes ou les adaptations spécifiques au mode de vie symbiotique avec des bactéries chimioautotrophes. Par ailleurs, l'étude des hémoglobines d'annélides nous a conduit à déposer plusieurs brevets sur l'utilisation de ce type de molécule comme transporteur d'oxygène à visée thérapeutique. Ces travaux sont valorisés par la start-up HEMARINA, désormais externalisée, et en retour, cette collaboration nous permet de poursuivre nos recherches fondamentales sur les propriétés intrinsèques de ces molécules.

Ces travaux s'intègrent dans le cadre de différents programmes nationaux ou européens et concernent, d'une part l'accès à l'expérimentation *in vivo* sur les organismes hydrothermaux et littoraux et d'autre part, le développement des approches de génomique et de protéomique avec un programme de séquençage sur le polychète *Alvinella pompejana* qui est en cours au Génoscope.

Projet scientifique concis 2009-2012

Thème 1 : Etude structurale, fonctionnelle et évolutive des protéines respiratoires

Responsable: F. Zal

a. Hémoglobine extracellulaire et polymorphisme

F. Zal, C. de Villardi, D. Le Guen

Les hémoglobines extracellulaires d'annélides en double couche hexagonale sont des structures complexes qu'il était jusqu'alors impossible d'étudier sur des échantillons provenant d'individus uniques. Ainsi les analyses fonctionnelles et structurales étaient réalisées sur un mélange de plusieurs dizaines à plusieurs centaines d'individus. L'émergence de nouvelles méthodes d'analyse, comme la spectrométrie de masse, nous a permis d'analyser ces molécules en partant de très peu d'échantillons. Il est donc désormais possible d'étudier le polymorphisme de ces structures complexes et de le mettre en relation avec la répartition spatio-temporelle de ces organismes au sein de leur environnement.

Nous avons en effet pu mettre en évidence un polymorphisme de structure entre les hémoglobines provenant d'individus de *Arenicola marina* prélevés à Saint-Pol de Léon et celles de l'aber de Roscoff, ainsi qu'entre celles d'individus de *Riftia pachyptila* provenant des sites ateliers 13°N et 9°50 sur la dorsale du Pacifique oriental. S'agit-il d'un polymorphisme reflétant l'existence de populations différentes ? ou s'agit-il d'une plasticité phénotypique de ces pigments respiratoires ? Au cours des prochaines campagnes océanographiques, nous collecterons des *Riftia* le long d'un gradient qui reste à définir sur nos deux zones d'étude. La même étude est en cours de réalisation sur l'arénicole à Roscoff. Pour cette espèce, nous savons qu'il y a une répartition spatio-temporelle des individus le long de la zone intertidale, les jeunes colonisant le haut de l'estran et les individus âgés, le bas de l'estran. Ainsi, ces animaux ne subissent pas les mêmes conditions environnementales notamment en ce qui concerne les pressions partielles d'oxygène. Il est donc intéressant d'étudier conjointement, la structure et la fonction de leurs hémoglobines afin de savoir si ces paramètres varient au cours de leur stade de vie, ou si ces organismes possèdent un panel de chaînes de globine qu'ils peuvent associer de façon différentielle en fonction du milieu qu'ils rencontrent, expliquant ainsi leur large répartition sur l'estran. Dès résultats très intéressants sont d'ores et déjà disponibles pour l'arénicole et sont en cours d'analyses. En effet, nous avons pu montrer que les structures d'hémoglobines de ces vers, collectés dans une zone précise, pouvait être différentes d'un individu à l'autre, cette différence de structure est également accompagnée d'une différence de fonction.

Collaboration : Emmanuelle Wagner : Laboratoire de Dynamique et Structure Moléculaire par Spectrométrie de Masse, Institut de Chimie - UMR 7177 CNRS-ULP ; Pascal Morin : Equipe Chimie Marine – Station Biologique de Roscoff – UMR 7144 ; Laboratoire de Neuroimmunologie des Annélides, FRE CNRS 2933 ; Morgane Rousselot : HEMARINA SA.

Financement : Ce projet est financé par le soutien de base de nos tutelles. Constance De Villardi bénéficie d'une Bourse Doctorale MRT (Ecole Doctorale Interbio, Paris VI)

b. Hémoctanine et plasticité phénotypique

F. Zal, M. Bruneaux, F. Lallier, D. Le Guen

Les hémocyanines (Hcs), pigments respiratoires de la plupart des arthropodes, sont constituées de chaînes polypeptidiques d'environ 75 KDa. Chacune des sous-unités possède un site actif, contenant une paire d'atomes de cuivre qui fixe la molécule d'O₂. Les sous-unités s'associent par six pour former des hexamères ou oligohexamères d'environ 100 Å de diamètre.

Une des caractéristiques des Hcs de crustacés est l'hétérogénéité très marquée des sous-unités. Des expériences de réassociation avec des sous-unités isolées et leurs combinaisons montrent que chacune de ces sous-unités joue un rôle spécifique dans l'architecture et la fonction de ces assemblages. La polymérisation à des niveaux supérieurs à l'hexamère apparaît également

comme un moyen de maximiser la capacité oxyphorique, en évitant à la fois une augmentation excessive de la pression osmotique colloïdale et une augmentation de la viscosité sanguine. Ainsi, l'hétérogénéité des sous-unités a deux impacts majeurs sur la fonction des Hcs : i) la formation de structures plus importantes que les hexamères, créant de nouveaux niveaux d'interactions allostériques ; ii) une augmentation de la plasticité fonctionnelle en partie due à l'effet de différents cofacteurs. Ainsi, une augmentation de la concentration totale en ions divalents dans l'hémolymphe des crustacés entraîne une augmentation d'affinité vis-à-vis de l'oxygène en modulant simplement la structure de leurs Hcs. La composition en sous-unités des différentes formes d'Hcs peut varier en fonction d'une part, de nombreux facteurs intrinsèques (e.g. stade de développement, adaptation à long ou moyen terme) ou d'autre part extrinsèques (e.g. conditions physico-chimiques du milieu, adaptation à court terme).

Ce projet se focalise sur l'adaptation à court terme chez plusieurs crustacés décapodes : le crabe littoral *Carcinus maenas* et les crabes hydrothermaux *Segonzacia mesatlantica* (sites Atlantique) ou *Bythograea thermydron* (sites Pacifique), en fonctions de leur disponibilité et de la programmation des campagnes océanographiques sur ces sites. Ces espèces seront soumises à des stress environnementaux divers (e.g. hypoxie, hypercapnie, changement de salinité, de température...) suivis de l'analyse structurale de leur Hcs par différentes techniques de biochimie (chromatographie basse pression), de chimie (spectrométrie de masse) et biophysique (cryo-microscopie). Une étude fonctionnelle des différents états de polymérisation est également effectuée afin de déterminer les avantages physiologiques des complexes ainsi formés. Toutes ces expériences sont réalisées dans des mésocosmes que nous avons réalisés. Ces travaux de recherche ont été confiés à Matthieu Bruneaux qui a commencé sa thèse en Octobre 2005.

Collaboration : Emmanuelle Wagner : Laboratoire de Dynamique et Structure Moléculaire par Spectrométrie de Masse, Institut de Chimie - UMR 7177 CNRS-ULP ; Patrick Bron : Equipe Structure et Dynamique des Macromolécules CNRS-UMR 6026 ; Yann Hebert : Bruker Daltonique SA

Financement : Ce projet est financé par deux projets européen Exocet-D et Hermes et également par le soutien de base de nos tutelles. Matthieu Bruneaux bénéficie d'une allocation MRT (Ecole Doctorale Interbio, Paris VI)

c. **Evolution moléculaire des pigments respiratoires**

F. Zal, A. Andersen, doctorant à recruter

Pour comprendre les relations phylogénétiques existant entre les trois lignées d'hémoglobines d'annélides (hémoglobine intracellulaire, circulante et non-circulante, et hémoglobine extracellulaire) nous avons déterminé la structure de leurs gènes. Nous avons ainsi mis en évidence et confirmé la présence d'un motif conservé de trois exons/deux introns, structure qui devait être présente dans le gène ancestral de type globine à l'origine.

Les analyses réalisées à partir de la séquence de l'hémoglobine intracellulaire circulante de *Alvinella pompejana* ont révélé une forte similarité entre cette séquence et celle de la déhaloperoxydase (DHP) de l'annélide polychète *Amphitrite ornata*. De précédents travaux réalisés sur cet enzyme suggéraient une origine commune entre la DHP et les hémoglobines. Pour vérifier cette hypothèse nous avons caractérisé la structure du gène codant la DHP. La présence des deux introns B12.2 et G7.0 confirme que la DHP est bien une hémoglobine. Ces résultats suggèrent que le gène codant la DHP est, soit identique à celui de l'hémoglobine intracellulaire circulante de *Amphitrite ornata*, soit issu d'une duplication ancestrale à partir d'un gène de type globine. Les données que nous possédons actuellement ne nous permettent pas de trancher pour l'une ou l'autre de ces deux possibilités. Par ailleurs, nous poursuivrons nos travaux sur l'évolution des hémoglobines extracellulaires qui sont constituées de chaînes de globine et de linkers afin de comprendre la genèse de ces molécules particulière.

Collaboration : Stefan Franzen, Department of Chemistry, NC State University, Raleigh.

Financement : Ce projet a été financé par un Programme de Recherche d'intérêt Régional (POLYNATHEME), un projet Européen FEDER et par le soutien de base de nos tutelles. Un doctorant devra être recruté pour poursuivre ces travaux.

d. Etude des processus d'auto-assemblage de l'hémoglobine de *Arenicola marina***F. Zal, Doctorant à recruter (Bourse CIFRE, HEMARINA et EI2ME)**

L'objectif de ces travaux est de pouvoir dissocier HbAm (hémoglobine de *Arenicola marina*) efficacement, afin d'obtenir ses différentes sous-unités (monomères et trimères de globines, dimères de linkers) et de les préserver leur fonctionnalité afin de pouvoir les réassocier entre elles pour reconstruire une HBL-Hb fonctionnelle et stable. Nous souhaiterions comprendre ces processus d'auto-assemblage, déjà décrit pour l'hémoglobine de *Arenicola marina* et de *Lumbricus terrestris*, afin de pouvoir reconstruire une molécule synthétique. Nous possédons au laboratoire, des éléments de base de cette molécule que nous surexprimerons dans des vecteurs d'expression à partir des cDNA de chaque chaîne. Nos travaux se sont focalisés sur les variations de pH et de concentrations en urée des tampons de dissociation. La dissociation à pH acide s'est révélée assez compliquée à mettre en œuvre. En effet, HbAm a un point isoélectrique (pI) acide de 4.69 autour duquel nous observons une précipitation. Au-delà de ce pH et jusqu'à la neutralité, l'Hb est stable, et pour un pH < 3, il y a dissociation spontanée de l'hème de sa globine accompagné d'une déstructuration importante et de la précipitation des sous-unités, et ce processus est irréversible. La seule gamme de pH acide utilisable est $3 < \text{pH} < 4$ mais le processus de dissociation s'est avéré très lent et les sous-unités issues de la dissociation étaient rapidement dégradées (probablement à cause d'une déoxygénation et une oxydation irréversibles des globines). Ces observations suggéraient d'avance que les interactions assurant le maintien de la structure quaternaire de HbAm étaient de nature différente de celle de HbLt. Finalement, les mécanismes et cinétiques de dissociation ont été étudiés à différents pH alcalins ou en présence de différentes concentrations en urée à pH neutre. Les sous-unités une fois isolées après dissociation, ont été mises en présence et dialysées à + 4 °C contre un tampon dit de réassociation. De nombreux tampons de réassociations ont été testés où nous avons fait varier la composition en sels et principalement en cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}) et mis en évidence, comme pour *Lumbricus terrestris*, les propriétés d'auto-assemblage de l'hémoglobine de *Arenicola marina*. Ce projet de recherche est partie intégrante du projet HEMORGAN, récemment labellisé par le pôle de compétitivité Mer-Bretagne qui vise à reconstruire une molécule synthétique d'hémoglobine de *Arenicola marina* à des fins fondamentales et appliquées.

Collaboration : Pr. Jean-Marie Lehn, ISIS, Université Louis-Pasteur, Strasbourg ; Morgane Rousselot : Hemarina SA

Financement : Ce projet sera financé par l'ANR RIB que nous venons d'obtenir. Un doctorant devra être recruté pour poursuivre ces travaux.

Thème 2 : Adaptations physiologiques en milieux réduits, approche globale

a. Stress oxydant et mécanisme de défense**J. Mary, F. Zal, A. Andersen**

Ce projet vise à analyser les interactions, tant positives que néfastes, du sulfure d'hydrogène (H_2S) sur les systèmes antioxydants chez des annélides marines colonisant des milieux riches en H_2S et soumis naturellement à des menaces oxydatives : *Paralvinella grasslei* et *Alvinella pompejana* des sources hydrothermales profondes et *Arenicola marina* des zones intertidales envasées. La forte activité métabolique aérobie associée aux températures de vie des alvinellidés génère des taux très importants de ROS (*Reactive Oxygen Species*), dont la toxicité est encore accrue par les fortes teneurs en métaux dissous. L'arénicole, bien que vivant dans un environnement très différent, est elle aussi exposée à des ROS générés photochimiquement dans les eaux de surface. L' H_2S de ces milieux, combiné avec l'oxygène, augmente encore la production de ROS; de plus, les sulfures sont connus pour être des inhibiteurs d'enzymes héminiques comme l'enzyme anti-oxydante catalase. Il est donc intéressant de déterminer les défenses enzymatiques anti-oxydantes qui protègent ces animaux contre les dommages oxydatifs. D'ores et déjà un premier bilan des enzymes anti-oxydantes et d'enzymes métaboliques présentes chez *Paralvinella grasslei* et *Alvinella pompejana* a été réalisé. Afin d'aller plus loin dans la compréhension de ces mécanismes, nous avons utilisé nos mésocosmes et soumis *Alvinella* à des

stress métalliques et oxydatifs. L'effet de ces différents stress sont en cours d'analyse par une approche de protéomique. Nous étudions de manière approfondie les enzymes de types peroxyrédoxines (thiorédoxine peroxydases) et leurs protéines associées (thiorédoxines, thiorédoxine réductases) ainsi que les glutathions peroxydases et réductases. D'une part, parce que les cystéines libres, caractéristiques des peroxyrédoxines, pourraient jouer un rôle prépondérant dans le transport et la détoxification de grandes quantités d'H₂S, à l'instar des cystéines libres de l'hémoglobine de vers colonisant des milieux réduits; d'autre part, parce qu'elles pourraient utiliser l'H₂S comme cofacteur dans la réduction de leurs ponts disulfures intra- et intermoléculaires. Une étude récente suggère en effet que les peroxyrédoxines de mammifères ont la capacité de former des ponts disulfures mixtes avec l'H₂S.

Collaboration : Emmanuelle Wagner : Laboratoire de Dynamique et Structure Moléculaire par Spectrométrie de Masse, Institut de Chimie - UMR 7177 CNRS-ULP ; Thierry Rabilloud : IRTSV/BBSI, UMR CNRS 5092 CEA-Grenoble ; Jean-François Rees et Bernard Knoops : Laboratoire de biologie cellulaire, Institut des Sciences de la Vie, Université catholique de Louvain, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique ;

Financement : Ce projet est financé par l'ANR Blanche *Alvinella*.

b. Adaptation au mode de vie symbiotique

F. Lallier, A. Andersen, I. Boutet (Post-doc ANR)

Le ver tubicole géant des sources hydrothermales du Pacifique, *Riftia pachyptila*, est une symbiose stricte, sans mode alternatif de nutrition, mais néanmoins extrêmement efficace, comme en témoigne leur vitesse de croissance exceptionnelle. Les bactéries sont intracellulaires, contenues dans les vacuoles des bactériocytes, ces cellules formant l'essentiel d'un organe interne, le trophosome. Ce sont des gamma-protéobactéries, autotrophes, sulfo-oxydantes strictes, nécessitant du CO₂ comme source de carbone, et de l'O₂ et de l'H₂S comme source d'énergie chimique. Ces besoins métaboliques et la position interne des bactéries dans l'animal imposent l'existence d'adaptations spécifiques chez l'hôte, permettant d'acquérir dans le milieu, puis de transporter jusqu'aux bactéries les métabolites nécessaires. En fait, on peut considérer *Riftia* comme un modèle de symbiose en cours d'internalisation. Les bactéries sont vacuolisées au sein du cytoplasme des bactériocytes mais la transmission est encore horizontale, ce qui implique que les bactéries existent sous forme libre dans le milieu hydrothermal profond, bien que personne ne soit encore arrivé à les cultiver une fois isolées de leur hôte. Cette perte de la capacité des symbiotes à vivre libre suggère une forte interaction entre les génomes hôte/symbiote. Dans ce contexte, il semble particulièrement intéressant d'identifier et de caractériser les protéines les plus impliquées dans les adaptations au mode de vie symbiotique, afin de disposer par la suite de "cibles" pertinentes dans les études de physiologie.

Avec *Riftia* nous avons mis au point un protocole d'hybridation soustractive suppressive (SSH) entre filaments branchiaux et trophosome (tissus jouant un rôle dans le mode de vie symbiotique) et paroi du corps (tissu de référence). La méthode est efficace (Sanchez et al, 2007a): nous avons obtenu un total de plus de 700 séquences avec une moyenne d'environ 50 ADNc tissu-spécifique par banque (confirmé par FISH et qPCR). Un nouveau transcrit d'anhydrase carbonique branchiale et une myohémérythrine du trophosome commencent à être étudiés (Snachez et al 2007b).

Nous souhaitons poursuivre l'étude des transcrits spécifiques isolés chez *Riftia*, notamment après acclimatation des animaux en conditions contrôlées, et reprendre cette approche sur d'autres modèles de symbioses chimioautotrophes. La modiole *Bathymodiolus azoricus* par exemple, présente une intégration moindre sur le plan physiologique (les bactéries sont dans les branchies, donc proches du milieu) mais la plasticité de l'association est plus grande: cette espèce abrite deux bactéries endosymbiotiques, une sulfo-oxydante et une méthanotrophes, dont les abondances relatives semblent dépendre de la disponibilité des molécules réduites dans le milieu. Parallèlement aux banques soustractives, la réalisation prochaine d'une puce cDNA sur cette espèce ouvre des perspectives prometteuses. Ainsi il devrait être possible d'obtenir des individus aposymbiotiques et de suivre les modifications du transcriptome lors de la réinfestation.

Collaboration : Arnaud Tanguy et Stéphane Hourdez : Equipe GAME - UMR 7144 ; Sébastien Duperron, UMR 7138, Paris – Nicole Dubilier, MPI Bremen – Monika Bright, U. Vienna, Autriche - Horst Felbeck : Scripps Institution of Oceanography, San Diego

Financement : Ce projet est financé par l'ANR Deep-Oases, inscrit dans le GDR Ecchis, et un projet européen ERC est à l'étude sur *Bathymodiolus azoricus*.

Masters et Ecole doctorale de rattachement

En raison du large éventail de techniques et de problématiques abordées, il est primordial que nous puissions recruter nos étudiants dans divers parcours de formation à la recherche.

- Master UPMC, mention 6 - Biologie Cellulaire et Moléculaire
- Master UPMC, mention 7 - Biologie Intégrative et Physiologie (sp. Physio. Comp.)
- Master UPMC, mention 8 – Environnement (sp. Océano. & Biodiv.)

- Ecole Doctorale Interbio, UPMC

Expression des Besoins

Pour réaliser ce projet plusieurs équipements s'avèrent indispensables à acquérir à l'échelle de notre équipe mais également à l'échelle de l'UMR ou de la FR 2424.

Equipe : L'acquisition de plusieurs petits et moyens équipements (8 - 30 k€) s'avèrent nécessaires à la réalisation de nos projets. Ces équipements sont difficiles à financer sur les crédits de « fonctionnement » de l'équipe et devraient bénéficier d'un soutien spécifique de nos tutelles pour nous permettre d'aborder ce plan quadriennal dans des conditions optimales de fonctionnement.

- Le besoin en stockage -80°C, afin de préserver les échantillons issus de nos campagnes océanographiques d'échantillonnage.
- Respiromètres sous pression et à pression atmosphérique, couplés à des analyseurs type GC ou MS. Ces instruments pourront être embarqués lors de campagnes océanographiques.
- Jouvence d'équipements de base pour la physiologie respiratoire: oxymètres, détecteurs multiparamètres,...
- Système FFF et nouveau système MALLS pour la purification et la caractérisation des macromolécules protéiques.

Fédération de Recherche :

- Nous souhaiterions que se mette en place, à la Station Biologique, un service commun de cryo-microscopie permettant la reconstruction 3D de molécules isolées. Un cryo-microscope est sur le point d'être acquis mais pas la plateforme informatique et les logiciels qui permettent d'assurer une reconstruction.
- Des générateurs d'azote liquide et de carboglace, extrêmement utilisés dans le laboratoire, permettraient de s'affranchir de la dépendance envers les fournisseurs extérieurs.
- Nous souhaiterions également que le spectromètre de masse de type ESI-MS Q-TOF (plateforme FR 2424) soit de nouveau pleinement opérationnel. Il s'agit d'un gros équipement indispensable à nos travaux qui est malheureusement non fonctionnel depuis deux ans. Cette situation nous oblige à sous-traiter nos analyses à l'extérieur.
- Un plateau technique de surexpression de protéines serait également plus efficace à l'échelle de la Fédération de Recherche que les développements actuels au sein des Unités.

Besoins en personnels

- Nous souhaitons vivement pérenniser la présence de Jean Mary (actuellement CR en délégation CNRS) dans notre équipe afin de poursuivre les projets de protéomique engagés, et demandons l'affichage d'un poste MC UPMC pour cela.
- L'affichage d'un poste de CR CNRS " Evolution moléculaire et adaptation fonctionnelle des protéines" est également demandé (campagne Labintel 2008).

Mais le besoin le plus criant c'est l'aide technique qui nous fait défaut. Nous demandons:

- Un poste d'AI biologie moléculaire et biochimie des protéines, mutualisé avec l'équipe GAME
- Un poste d'IR "expression des protéines" pour assurer le développement de nos recherches dans ce domaine.

Idéalement, ce dernier poste devrait être affecté à une plateforme commune de la Station Biologique de Roscoff, la surexpression de protéines étant un "chaînon manquant" du futur Institut de Génomique Marine, entre les plateformes de séquençage et de bioinformatique, et celles de biologie structurale (cristallisation, cryomicroscopie, diffraction X).

Equipe

Génétique de l'Adaptation aux Milieux Extrêmes

GAME

Responsable: Didier JOLLIVET

Composition prévue en 2008 / 2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
Stéphane HOURDEZ	CR2	Sophie PLOUVIEZ, D	2006-2009
Didier JOLLIVET	CR1	Joana GARCIA-PROJECTO, D	2006-2009
Arnaud TANGUY	MC		
Jean-Yves TOULLEC	MC (arrivée 2009)		
Dominique LE GUEN	TCS, 50%		

Thématique

L'importance de la sélection naturelle comme moteur de l'évolution des espèces (sélection Darwinienne positive) a fait l'objet de nombreux débats d'idées entre neutralistes et sélectionnistes. De plus en plus de travaux suggèrent que les mécanismes d'isolement pré- et post-zygotiques sont souvent le résultat de l'action conjuguée de la **sélection naturelle** et la **dérive génétique**. La sélection peut s'exercer en favorisant un allèle donné (balayage sélectif), en éliminant les allèles (légèrement) délétères (sélection négative) ou encore en favorisant l'hétérozygotie (sélection balancée). Cependant, le mode d'action de la sélection peut être altéré si les pressions environnementales varient dans le temps et l'espace (Hedrick 1986). Dans ce cas, l'hétérogénéité de l'environnement peut donner tantôt l'avantage aux hétérozygotes tantôt aux homozygotes. La vitesse de fixation d'un allèle avantageux est quant à elle fortement dépendante de la taille efficace des populations et de leur degré d'échanges. Il en résulte qu'une spéciation de type « écologique » peut s'avérer extrêmement rapide chez des organismes présentant des populations de petite taille ou de taille fluctuante lorsque l'environnement, morcelé et hétérogène, donne lieu à une exploration de combinaisons novatrices de gènes.

D'une façon générale, en milieu pélagique ou en milieu côtier, la plupart des espèces à cycle benthopélagique présentent des tailles efficaces de populations extrêmement grandes permettant l'apparition de nombreuses mutations « adaptatives » mais rendant leur fixation difficile dans le génome. L'évolution « adaptative » est alors lente car les possibilités d'essai de combinaisons novatrices de gènes sont limitées. De plus, ces milieux sont souvent continus et stables dans le temps. Selon la théorie des « pics adaptatifs » de Wright (1931), les chances de séparer deux populations et d'évoluer vers la spéciation sont faibles au sein d'environnements stables et continus en raison d'un certain nivellement du paysage adaptatif. Il existe cependant des environnements marins beaucoup plus instables et hétérogènes, tel que la zone de balancement des marées ou encore l'environnement hydrothermal profond. Dans ce type d'environnement, la forte variabilité spatio-temporelle des paramètres environnementaux et le très fort degré de fragmentation des populations devrait favoriser l'adaptation locale si le flux génique est limité et sélection par l'habitat est très forte (Hedrick, 1986). Ce genre d'effets a été montré au niveau de zones très fortement polluées entre individus colonisateurs et populations limitrophes (Bradshaw, 1971) ou chez les invertébrés intertidaux soumis à des fortes contraintes environnementales (température, dessiccation, salinité : Johannesson et al. 1995, Schmidt et Rand 1999). L'étude des parentés génétiques entre les différentes espèces d'Alvinellidae suggère que l'habitat aurait pu avoir un rôle non négligeable dans les processus de spéciation au sein de cette famille (Jollivet et al. 1995) et dans la structuration de la diversité génétique des espèces (Piccino et al. 2004). Dans

ce cas particulier, la diversité des conditions de milieu permet de tester de nombreuses combinaisons génétiques novatrices, de sauter la vallée du paysage adaptatif pour aller d'un pic à un autre et ce d'autant plus vite que la dérive génétique est exacerbée par les importantes réductions d'effectifs (type 'Flush & Crash') liées à l'instabilité tectonique du milieu.

D'une façon générale, très peu d'études ont été dévolues au problème de la spéciation environnementale en milieu marin, tout particulièrement chez les invertébrés. Ces derniers représentent pourtant de très bons modèles lorsqu'ils vivent dans des milieux contrastés pouvant affecter leur métabolisme. L'histoire évolutive des adaptations qui confèrent à l'organisme un avantage sélectif par rapport à d'autres espèces dans un milieu donné reste donc une véritable gageure pour les années de la post-génomique (Prosser, 1989, Bennett, 1997, Hochachka & Somero, 2002).

Le récent développement des sciences de la génomique et le séquençage sans cesse grandissant de génomes complets eucaryotes marque un nouvel essor dans la recherche et la quantification des mutations adaptatives afin de mieux cerner leur importance dans l'évolution des espèces. De nombreux travaux récents mettent en évidence le rôle très important de la sélection positive dans l'évolution des génomes, la spéciation et l'organisation de la diversité génétique au sein des espèces (Yang et Bielaski 2000 ; Smith & Eyre-Walker 2002 ; Glinka et al. 2003, Voight et al. 2006). Le criblage génomique a en effet révélé qu'une très large fraction du génome (traduit ou non-traduit) était soumis à de très fortes contraintes de sélection purifiante ou diversifiante donnant lieu dans tout les cas à de l'évolution adaptative (Andolfatto 2005).

La création de l'équipe GAME se situe dans cette nouvelle mouvance afin de tirer profit du séquençage complet (*A. pompejana*) ou partiel (*B. azoricus*, *P. grasslei*) des transcriptomes d'espèces hydrothermales. Ces objectifs sont **de mieux comprendre comment l'extrême instabilité et hétérogénéité des conditions du milieu hydrothermal (température, oxygène, métaux) influe sur la diversité génétique des espèces, le taux d'évolution des gènes et, contribue ou non à favoriser la spéciation « écologique »**. Ce projet d'équipe s'appuie sur une complémentarité de disciplines au sein de l'UMR 7144 allant de la génomique évolutive et génétique des populations à la physiologie comparée afin de pouvoir mettre en œuvre des stratégies d'échantillonnage et des protocoles expérimentaux à même de tester différentes hypothèses ayant trait à l'action de la sélection naturelle sur l'évolution des organismes vivant dans des milieux qualifiés d' « extrêmes ».

Approches et espèces cibles

Les environnements extrêmes comme les sources hydrothermales requièrent des adaptations spécifiques pour y vivre. Ce besoin explique au moins en partie le très fort taux d'endémisme observé dans ce milieu. De nombreuses adaptations métaboliques ont déjà été décrites, notamment dans les voies de la respiration, la détoxification du sulfure d'hydrogène (Powell et al. 1987 ; Toulmond et al. 1990). Très récemment, des études *in situ* et *in vivo* ont montré l'existence d'une forte tolérance des polychètes Alvinellidae aux hautes températures (Cary et al. 1998 ; Girguis & Lee 2005). Ces adaptations ont très certainement un coût métabolique important qui rend les espèces hydrothermales peu compétitives en milieu non contraignant.

Les espèces cibles que nous avons retenues sont principalement celles, pour lesquelles nous possédons d'ores et déjà un effort conséquent de séquençage au niveau du transcriptome, pour mieux connaître leur réponse vis-à-vis de l'adaptation aux hautes températures, à l'anoxie et aux très fortes concentrations en métaux lourds , à savoir :

(1) *Alvinella pompejana* & *Paralvinella grasslei*

(espèces proches de polychètes hydrothermaux, l'un étant associé au pôle « chaud » de l'environnement et l'autre au pôle « froid »)

(2) *Bathymodiolus azoricus*

(bivalve hydrothermal du pôle « froid » soumis à d'importantes périodes d'exposition à l'anoxie et aux métaux lourds et pour lequel une approche comparative avec son homologue intertidal *Mytilus edulis* est prévue)

(3) *Branchiopolynoe symmytilida*

(polychète commensal de la bathymodiole soumis aux mêmes contraintes écologiques que son hôte et provenant d'une famille : les Polynoidae qui présente de nombreuses espèces ayant colonisées tous les compartiments de l'habitat hydrothermal)

Deux types d'approches peuvent être menées pour étudier les interactions des espèces dans un contexte évolutif :

- 1) une approche intra-spécifique, basée sur l'étude des polymorphismes protéiques et des fréquences de variants « adaptatifs » en milieux contrastés (température, oxygène, sulfures, métaux, etc...)
- 2) une approche plurispécifique comparant des gènes orthologues codant pour des protéines cibles chez deux (ou plus) espèces occupant des niches différentes dans les communautés.

1- Approche intra-spécifique

Cette approche a par exemple montré que certains polymorphismes enzymatiques associés à l'espèce *Alvinella pompejana* était le résultat d'une adaptation différentielle des allèles à la température. Notre objectif est de continuer ce genre d'approche en travaillant directement sur les protéines recombinantes que nous pourrions obtenir des banques de clones afin de mesurer leur efficacité catalytique (tests d'adaptation) puis de suivre les mutations potentiellement « adaptatives » dans les populations naturelles par criblage SNP.

2- Approche plurispécifique

Nous menons cette approche en prenant des paires d'espèces issues d'environnements contrastés telles que *Alvinella/Paralvinella* dans le cadre de l'adaptation à la température, la première vivant à la surface même des cheminées alors que la seconde se trouve à la base des bouquets du vestimentifère *Riftia pachyptila*. L'approche est de comparer les transcriptomes de façon globale (biais mutationnel) puis gène-candidat par gène-candidat d'un point de vue structural et fonctionnel. Cette approche comparative entre espèces proches sera également faite entre l'environnement intertidal et hydrothermal (cas des Mytilidae) et, de la douzaine d'espèces proches appartenant à la famille des Polynoidae.

Au cours de ce quadriennal, 4 axes de recherche seront particulièrement développés :

- (1) La recherche de signatures moléculaires de l'adaptation par analyse globale du transcriptome
- (2) L'évolution moléculaire de certains gènes impliqués dans l'adaptation des espèces par comparaison de séquences orthologues entre espèces proches
- (3) L'étude des polymorphismes « adaptatifs » au sein des espèces
- (4) La mise en évidence de l'avantage adaptatif d'un variant par analyse de ses propriétés fonctionnelles et structurales et de la valeur sélective (fitness) des individus le portant

Thème 1 : Signatures moléculaires de l'adaptation

Une étude préliminaire portant sur les protéines ribosomiques, mitochondriales (niveau métazoaire) et les hémoglobines extracellulaires (niveau annélide) a été réalisée *in silico* à partir des séquences annotées du transcriptome d'*Alvinella*. Les résultats obtenus entre différents phyla montrent un très net enrichissement en acides aminés hydrophobes chez les alvinellidae. Une comparaison sur un premier jeu de séquences orthologues entre *Alvinella pompejana* (pôle chaud) et *Paralvinella grasslei* (pôle froid) montrent quant à lui un fort biais mutationnel en faveur des acides aminés chargés et hydrophobes ainsi qu'une accumulation des alanines à la place des serines et des thréonines. Ces données corroborent les travaux effectués entre les génomes des archées et des bactéries mésophiles et thermophiles (Nishio et al. 2003). L'analyse des biais mutationnels en acides aminés et en codons se poursuivra sur l'ensemble des protéines annotées des transcriptomes d'Alvinellidae et devrait permettre une analyse globale sur plus de 2000 paires de séquences orthologues. Ces études devraient permettre de mieux cerner le rôle de la sélection dans l'architecture du protéome et d'identifier des signatures moléculaires de l'adaptation aux hautes températures. Ce genre d'analyses devrait également permettre de savoir s'il existe des convergences adaptatives avec les vertébrés homéothermes. Le séquençage de plusieurs banques d'ADNc tissu-spécifiques (mélange d'une dizaine d'individus) a également révélé l'existence d'un important polymorphisme non-synonyme sur de nombreux contigs chez l'espèce *Alvinella pompejana*. L'effort de séquençage très important concédé sur cette espèce et le grand nombre de gènes orthologues séquencés entre *Alvinella* et *Paralvinella* nous permettent donc d'ores et déjà d'envisager un criblage génomique des locus pouvant être sous sélection positive en utilisant le rapport divergence/polymorphisme pour tester les écarts à l'évolution neutre (tests HKA et/ou MacDonald-Kreitman). Ces mêmes locus pourront également faire l'objet d'études plus approfondies entre colonisateurs (habitat chaud) et reproducteurs (habitat plus froid) en analysant l'évolution du Fst et du déséquilibre de liaison entre gènes. Ces analyses permettront de mieux comprendre le rôle de la sélection positive et de la recombinaison dans l'évolution des génomes lorsque les organismes sont soumis à de fortes contraintes environnementales. Ces travaux devraient également permettre de mieux cerner le rôle de l'épistasie (et notamment les effets synergiques) pouvant exister entre gènes.

Thème 2 : Evolution moléculaire de gènes candidat à la sélection

L'identification de gènes candidat à la sélection nécessite également une recherche des codons sous sélection positive par analyse Bayésienne sous contrainte phylogénétique. Ce genre d'approche s'est révélé extrêmement puissante pour détecter de l'évolution adaptative dans l'étude de certaines classes de protéines chez de nombreux taxons (voir Yang et Bielaski 2000). Nous proposons donc d'effectuer ce genre d'analyses dans un cadre phylogénétique restreint utilisant les espèces de deux familles de polychètes extrêmement diversifiées trouvées dans l'habitat hydrothermal : les Alvinellidae et les Polynoidae. Ces familles présentent en effet des espèces qui occupent toutes les niches écologiques de l'environnement hydrothermal. Ceci permet une approche comparative dans un contexte phylogénétique connu et une analyse des possibles adaptations par la méthode des contrastes indépendants. Ce genre d'analyses s'avère extrêmement précieux pour savoir si certaines adaptations sont récemment dérivées ou très ancestrales, la détection de sites sous sélection positive étant généralement plus facile sur des mutations récentes.

Thème 3 : Etude des polymorphismes « adaptatifs »

L'adaptation d'une espèce à son environnement peut se faire de deux façons :

(1) une stratégie à court terme faisant intervenir une régulation différentielle dans l'expression des gènes, celle-ci pouvant être associée à un polymorphisme « adaptatif » des régions promotrices ou à des processus épigénétiques et,

(2) une stratégie à long terme faisant intervenir la sélection de variants avantageux dans les populations qu'elle soit dirigée (balayage sélectif) ou balancée par un avantage à l'hétérozygote ou par l'hétérogénéité du milieu.

Les outils de transcriptomique seront particulièrement utilisés dans le cadre de l'équipe GAME. Les approches de génomique environnementale qui vise à appréhender les mécanismes de régulation génique qui lient les organismes à leur environnement et à ses variations sont en plein essor (Snape et al., 2004 ; Cossins et al., 2006, Teixeira et al., 2007). Un gros effort dans le développement d'outils transcriptomiques a été réalisé à la fois sur les modèles hydrothermaux (annélides et mollusques) mais également sur les modèles mollusques côtiers (collaborations IFREMER, UBO, Université du Havre). Plusieurs puces à ADN sont en cours de construction dans le cadre de collaborations (Marine Genomic Europe, Laboratoire IGBMC de Strasbourg) et seront disponibles rapidement afin de réaliser des études de transcriptomie comparative. Nous emploierons cette approche notamment dans le but d'identifier des patrons d'expression de gènes en relation avec des variations de facteurs environnementaux (température, métaux lourds, polluants,...) au niveau global afin d'identifier les grandes voies métaboliques régulées par les différents paramètres étudiés. Cette approche est envisagée à la fois sur les modèles hydrothermaux et des espèces côtières phylogénétiquement proches (surtout le modèle moule) afin d'identifier les patrons métaboliques communs ou spécifiques en relation avec des environnements contrastés. Ces études comparatives permettront de caractériser des réseaux de gènes qui pourront être interprétés comme des phénotypes. Ces analyses comparatives permettront notamment l'identification de gènes clés dans les processus de réponse des organismes aux facteurs de l'environnement. Des études plus fines de la régulation de ces gènes clés seront alors entreprises par des techniques de PCR quantitative. Des approches différentielles comparatives multi-stress et multi-espèce où taxons seront ainsi conduites afin de caractériser des signatures transcriptomiques « universelles » ou au contraire spécifiques de stress particulier ou lié à l'espèce dans une visée évolutive des réponses des organismes aux variations environnementales.

A partir des données issues de la transcriptomie (gènes clés différentiellement exprimés en fonction d'un stress) ou d'un « scan » génomique (locus présentant un écart à l'évolution neutre), nous nous proposons d'analyser les variations en fréquence de certains gènes candidat à la sélection en populations naturelles ou entre lots d'individus expérimentés. Des efforts particuliers seront portés sur la caractérisation des séquences codantes complètes ainsi que des régions promotrices de ces gènes afin de caractériser les variants alléliques. Par la suite, un suivi des fréquences de ces différents variants sera entrepris afin de rechercher des corrélations entre fréquence des variants et caractéristiques physico-chimiques de l'environnement dans lequel évoluent les populations, soit à partir d'un génotypage au niveau populationnel par la technique SNP des mutations diagnostiques, soit à partir d'une étude du polymorphisme nucléotidique sur un plus petit nombre d'individus. Ces études de polymorphisme seront également réalisées au niveau des promoteurs lorsque cela s'avérera possible. Cette approche visera également à détecter les éventuelles corrélations entre l'environnement physico-chimique et les fréquences et/ou le niveau d'expression des allèles (détecté par PCR quantitative).

Thème 4 : Mise en évidence de l'avantage adaptatif

Les protéines d'intérêt seront étudiées pour leurs propriétés fonctionnelles et/ou leur structure en relation avec les paramètres environnementaux testés. Ces protéines d'intérêt seront soit purifiées à partir de tissus, soit surexprimées dans des vecteurs d'expression Gateway. Ceci permettra une approche comparative *in vitro* des différents allèles et/ou protéines orthologues entre complexes d'espèces phylogénétiquement proches (afin de limiter les effets de saturation du signal informationnel). Cette approche vise à explorer l'influence des mutations potentiellement « adaptatives » sur les propriétés structurales et fonctionnelles de la protéine. Cette étude sera réalisée notamment par la production des protéines recombinantes (approche *in vitro*) entre formes alléliques associées à des locus présentant des écarts significatifs à l'évolution neutre au

niveau de la divergence (gène candidat à la spéciation «écologique») ou du polymorphisme (balayage sélectif). L'influence des mutations sur la structure des protéines sera appréhendée par des comparaisons de structure des protéines identifiées avec des structures hétérologues déjà décrites (modélisation 3-D de la structure primaire pour visualiser les effets de compaction du cœur hydrophobe de la protéine et/ou les modifications des liaisons électrostatiques entre feuillets ou hélices). Cette approche *in silico* permettra de trier *a priori* les mutations présentes selon leur impact probable sur la structure et, de sélectionner les protéines intéressantes pour l'étude de leur efficacité catalytique et/ou stabilité thermique. Le modèle *Alvinella* sera particulièrement étudié en relation avec la résistance à la thermie en collaboration avec le laboratoire IGBMC de Strasbourg (expression des protéines, analyse des structures).

En parallèle, nous nous proposons de réaliser des protocoles expérimentaux en aquarium sous pression (collaborations avec F. Lallier (SBR), B. Shillito (UMPC) et P. Girguis (Harvard)) pour tester la valeur sélective des individus porteur d'une mutation potentiellement avantageuse. Il s'agit là de pouvoir quantifier le taux de survie d'individus placés dans des conditions expérimentales de température, anoxie ou d'enrichissements en certains composés toxiques comme les hydrocarbures ou les métaux lourds. Pour mieux définir les relations phénotype/génotype, nous proposons d'utiliser les profils d'expression de gènes comme phénotype afin de rechercher d'éventuels effets d'épistasie entre génotypes de locus sous sélection quant au niveau de réponse des individus face à un stress environnemental contrôlé. Ce genre d'exercice pourra être envisagé dans un premier temps en considérant le niveau d'expression de gènes connus pour intervenir lorsque l'animal n'arrive plus à réguler son métabolisme vis-à-vis des contraintes extérieures (systèmes SOS, protéines de stress type HSP ou métallothionéines). Enfin, nous chercherons à savoir s'il existe un coût de l'adaptation à un environnement donné en analysant la fécondité et l'efficacité reproductrice des individus porteurs d'un allèle et/ou un génotype métaboliquement avantageux (collaboration envisagée avec l'équipe BDIM ; resp. M. Valero). Ce genre d'approche a déjà été réalisée dans le passé sur l'espèce *A. pompejana* pour laquelle un allèle thermostable de la phosphoglucomutase est plus fréquemment retrouvé chez les individus colonisateurs vivant à plus hautes températures (Piccino et al. 2004). Cet avantage à la colonisation semble donc balancé car les femelles porteuses de cet allèle ont une plus faible fécondité, ce qui pourrait expliquer en partie le maintien du polymorphisme.

Projet d'insertion de J.-Y. Toullec dans l'équipe GAME

L'objectif de ce projet est l'étude de l'évolution moléculaire de gènes impliqués dans l'adaptation des espèces à des conditions environnementales différentes, en insistant tout particulièrement sur la composante température du milieu. Les Crustacés représentent à ce titre un modèle pertinent puisqu'ils sont présents, aussi bien dans les milieux thermophiles (sources hydrothermales profondes à variabilité rapide dans le temps), les eaux tempérées (relativement stables), les eaux d'interfaces intertidales (hypervariable sur une échelle de temps plus importante), les eaux froides antarctiques (variations faibles voire presque nulles qui en font un milieu hyper stable, au point que les espèces présentes peuvent être considérées comme homéothermes).

Ce projet, qui sera réalisé en collaboration avec l'équipe « Adaptations aux Milieux Extrêmes (AMEX), resp. F. Gaill » localisée sur le campus Jussieu, se focalisera dans un premier temps sur les milieux extrêmes chauds (espèces hydrothermales telles que *Rimicaris sp.* ou *Mirocaris sp.*) et les milieux extrêmes froids (espèces sténothermes d'Antarctique *Euphausia superba* et *crystallorophias*). Le krill vivant en région antarctique constitue la biomasse planctonique la plus importante de la zone et à ce titre représente la source de nourriture essentielle de nombreux organismes macrophages de ces latitudes. Cette position intermédiaire dans la chaîne trophique confère à ces crustacés une importance toute particulière dans le maintien de l'équilibre écologique de la région. Le krill d'Antarctique (*Euphausia superba* ou *crystallorophias*) est, en comparaison d'autres espèces d'Euphausiacés plus ubiquistes (*Meganctiphanes norvegica*,...), strictement sténotherme, comme les études réalisées sur les

adaptations métaboliques et enzymatiques semblent le démontrer (Saborowski et Buchholz, 1999 ; Buchholz et Saborowski, 2000). Ces deux particularités apparemment indépendantes prennent toute leur importance dans le cadre d'un changement climatique annoncé (le réchauffement global des océans pouvant, dans l'avenir, influencer de manière drastique la population de krill d'Antarctique, et plus largement tout l'équilibre trophique de la région), mais aussi dans le cadre d'une étude comparative d'espèces d'Euphausiacés et plus largement des Eucarides, appartenant à des milieux différents. Ce programme bénéficie d'un financement IPEV.

L'équipe GAME développera préférentiellement l'approche génomique et transcriptomique et tentera de mettre en évidence et d'identifier les molécules différenciellement impliquées. L'orientation comparative au niveau du polymorphisme adaptatif entre les espèces sera particulièrement favorisée. Les approches comparatives seront réalisées entre espèces phylogénétiquement proches dans chacun des milieux considérés et entre espèces de milieux froid et chaud. Cette approche sera basée sur l'élaboration de banques soustractives à partir d'animaux conditionnés à des températures différentes. Les gènes ainsi mis en évidence seront alors les sujets privilégiés des études comparatives. Les données ainsi obtenues viendront s'ajouter aux données déjà récoltées sur les Polychètes ou les Bivalves thermophiles par la future équipe GAME. Ce projet, qui utilise les compétences et les savoir-faire complémentaires de deux équipes spécialisées dans l'étude des animaux des milieux extrêmes (GAME & AMEX), constitue une approche transversale des adaptations et des capacités adaptatives aux variations de température, avec comme premier modèle, les crustacés Eucarides. Une telle approche ne doit cependant pas se restreindre à un seul phylum et sera élargie à d'autres embranchements qui sont déjà les modèles privilégiés de la future équipe GAME.

Implications de l'équipe dans l'enseignement et la formation

L'équipe GAME est très fortement impliquée dans la formation universitaire de l'UPMC en particulier au niveau Master ('Sciences et Technologies de l'UPMC') : les enseignants chercheurs de l'équipe interviennent dans de nombreux modules (UE de Génomique Marine, DYPIM) et au niveau de la licence Pro (resp. P. Cormier). Les chercheurs et enseignants-chercheurs de l'équipe sont fortement impliqués en tant que participants ou co-responsables dans des enseignements de niveau doctoral et post-doctoral, par exemple dans le cadre du programme ESTEAM (programme Site Marie-Curie, Roscoff) et 3 Ecoles d'Été proposées dans le cadre du réseau d'excellence MGE.

Expression des Besoins

Besoin impératif d'aide technique (actuellement 1 T à 50%)

- Un poste d'AI biologie moléculaire et biochimie des protéines, mutualisé avec l'équipe EI2ME

Enseignant-chercheur :

- changement d'affectation de Jean-Yves Toullec dès 2009 (voir plus haut)

Chercheur

- affichage CR CNRS sur un profil biostatisticien en génomique évolutive

Equipements

Nécessité impérative de récupérer 40 m² de laboratoires équipés pour la biologie Moléculaire pour l'installation de cette nouvelle équipe, notamment système de détection des mutations (D-code BIORAD) et machines PCR.

Collaborations & programmes

Le projet d'équipe « GAME » repose sur l'acquisition récente de données génomiques chez espèces hydrothermales profondes à partir de plusieurs programmes nationaux et européens :

- (1) le programme GENOSCOPE de séquençage du transcriptome d'*Alvinella pompejana* (200 000 lectures, 10 000 ADNc pleine longueur).
- (2) les projets de séquençage de banques ADNc chez plusieurs espèces hydrothermales soutenus par les nœuds « Fish & Shellfish » et « EDD » du réseau d'excellence européen « Marine Genomics Europe »
- (3) les programmes de soutien nationaux (ANR blanches 'Bivalvomix ; coord. N. Bierne) et 'Alvinella' ; coord. D. Jollivet) et régionaux (PRIRE 'Amethyst' ; coord. D. Jollivet)

Notre équipe continuera à entretenir des liens très fort avec les deux autres équipes utilisant l'outil de la génétique des populations (équipe DIVCO ; resp. F. Viard et équipe BDIM ; resp. M. Valero) mais également avec l'équipe Ecophysiologie dirigé par F. Zal qui travaille sur les mêmes organismes. L'expérimentation sous pression s'effectuera de façon privilégiée avec B. Shillito (UMPC) et P. Girguis (Harvard) qui s'intéressent tous les 2 à l'adaptation des espèces hydrothermales à la thermie et, également avec les équipes de l'EMBL (D. Arent) qui travaille sur le génome de *Platynereis dumerilii*.

Collaborateurs (nom, structure)	Thème	Programmes
SBR		
F. Viard & E. Thiébaud	Dispersion des espèces hydrothermales	ANR DeepOases (D. Desbruyères, fin 2009)
F. Lallier & J. Mary	Adaptation des espèces hydrothermales	ANR DeepOases (D. Desbruyères, fin 2009)
M. Valero & D. Rose	Relation phenotype/genotype, epistasis	
M. Cijjek	Surexpression & cristallisation des protéines	ANR Alvinella
National		
F. Bonhomme (MontpellierII)	Polymorphismes « adaptatifs »	ANR Bivalvomix & ANR Alvinella
N. Bierne (MontpellierII)	« Scan » génomique et adaptation	ANR Bivalvomix & ANR Alvinella
O. Poch & O. Lecompte (IGBMC)	Annotation & analyses génomiques	ANR 'Alvinella', projet « EUROPOLE MER »
D. Moraga (IUEM)	Puces à ADN et transcriptomique	PRIRE 'Amethyst' (Région Bretagne)
B. Shillito & J. Ravaux (UPMC)	Adaptation à la thermie	ANR Alvinella
International		
R. Lee (Washington State University)	Adaptation à la thermie	ANR 'Alvinella'
Peter Girguis (Harvard University)	Adaptation à la thermie	ANR 'Alvinella'
C.R. Fisher (Pennstate University)	Ecologie des espèces hydrothermales	Projet NSF
D. Arent (EMBL)	Génomique des polychètes	ReX MGE

Références bibliographiques

- Andolfatto, P. 2005. Adaptive evolution of non-coding DNA in *Drosophila*. *Nature* 437: 1149-1152.
- Bradshaw, A.D. (1971). Plant evolution in extreme environments. In: Creed, E.R. (Ed) *Ecological genetics and Evolution*, pp.. 20-50. Appleton-Century-Croft, New York.
- Cary S.C., Shank T., Stein J.L. 1998. Worms bask in extreme temperatures. *Nature* 391: 545-546.
- Cossins A, Fraser J, Hughes M, Gracey A. 2006. Post-genomic approaches to understanding the mechanisms of environmentally induced phenotypic plasticity. *J Exp Biol.* 209(Pt 12):2328-36
- Girguis P.R. & Lee R.W. 2006. Thermal preference and tolerance of alvinellids. *Science* 312:231.

- Hedrick, P.W. (1986). Genetic polymorphism in heterogenous environments: a decade later. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **17**, 535-566.
- Glinka S., Ometto L., Mousset S., Stephan W. & De Lorenzo D. 2003. Demography and natural selection have shaped genetic variation in *Drosophila melanogaster* : a multi-locus approach. *Genetics* **165** :1269-1278.
- Hochachka, P.W. & Somero, G. N. (2002). Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, New York. 466 pp.
- Hummel H. and Patarnello, T. 1994. Genetic effects of pollutants on marine and estuarine invertebrates *in*: Beaumont, A.R. ed., *Genetic and evolution of aquatic organisms*. Chapman & Hall, London, pp. 425-434
- Johannesson K., Johannesson B. & Lundgren U. 1995. Strong natural selection causes microscale allozyme variation in a marine snail. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92** : 2602-2606.
- Jollivet, D., Desbruyères, D., Ladrat, C. & Laubier, L. 1995. Evidence for differences in allozyme thermostability in deep-sea hydrothermal vent polychaetes Alvinellidae: a possible selection by habitat. *Marine Ecology Progress Series*, **123**, 125-136.
- Nishio Y., Nakamura Y., Kawarabayasi Y., Usuda Y., Kimura E., Sugimoto S., Matsui K., Yamagishi A., Kikuchi H., Ikeo K. & Gojobori T. 2003. Comparative complete genome sequence analysis of the amino acid replacements responsible for the thermostability of *Corynebacterium efficiens*. *Genome Res.* **13** : 1572-1579.
- Piccino, P., Viard, F., Sarradin, P.M., Le Bris, N., Le Guen, D. & Jollivet, D. 2004. Thermal selection of PGM allozymes in newly founded populations of the thermotolerant vent polychaete *Alvinella pompejana*. *Proceedings of the Royal Society of London, serie B*, **271**, 2351-2359. Bennett, A.F. (1997) Adaptation and the evolution of physiological characters. Pp. 3–16 in W.H. Dantzler, ed. *Handbook of Physiology. Sec. 13. Comparative Physiology. Vol. 1*. Oxford University Press, New York.
- Powell M.A., Vetter R.D. & Somero G.N. 1987. Sulfide detoxification and energy exploitation by marine animals. In : Dejours P., Taylor C.R. & Weibel E.R. (eds), *Comparative physiology : life in water and on land*. Fidia Res. Ser. IX-Liviana Press, Padova, pp 241-250.
- Prosser, C. L. (1989). Comparative physiology and biochemistry: challenges for the future. *Comp. Biochem. Physiol. [A]* **93**, 309-312.
- Schmidt P.S. & Rand D.M. 1999. Intertidal microhabitat and selection at MPI : Interlocus contrasts in the Northern acorn barnacle, *Semibalanus balanoides*. *Evolution* **53**(1) : 135-146.
- Smith N.G. & Eyre-Walker A. 2002. Adaptive protein evolution in *Drosophila*. *Nature* **415** : 1022-1024.
- Snape, J.R., Maund, S.J., Pickford, D.B. and Hutchinson, T.H. 2004. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquat Toxicol.* **67**(2):143-54
- Teixeira, M.C., Duque, P. and Sá-Correia, I. 2007. Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2,4-D. *Trends in Biotechnology*. In press.
- Toulmond, A., El Idrissi Slitine, F., De Frescheville, J. & Jouin, C. (1990). Extracellular hemoglobins of hydrothermal vent annelids: structural and functional characteristics in three alvinellid species. *Biol. Bull.* **179**, 366-373.
- Voight B.F., Kudaravalli S., Wen X. & Pritchard J.K. 2006. A map of recent positive selection in the human genome. *PLOS Biology* **4**(3) : 446-659.
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, **16**, 97-159.
- Yang Z. & Bielawski J.P. 2000. Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends Ecol. Evol.* **15**(12) : 496-503.

Equipe Diversité du Plancton Océanique DPO

Responsable: Daniel Vaultot

Composition prévue en 2008 / 2009

Personnel Titulaire	Grade	Personnel Temporaire	période
GUILLOU Laure	CR	SHI Xiaoli, P	2006-2008
SIMON Nathalie	MC		
VAULOT Daniel	DR, HDR	CHAMBOUVET Aurélie, D	2005-2008
		CRAS Anne-Lise, D	2007-2010
		(co-tutelle avec Villefranche)	
MARIE Dominique	IR, 75%	FOULON Elodie, D	2005-2008
LE GALL Florence	AI, 75%	MASQUELIER Sylvie, D	2005-2008
		SAUVADET Anne-Laure, D	2007-2010
		GOURVIL Priscilla, AI C 40%	2007-2010
		JOUENNE Fabien, IR C	2006-2008

Thématique

Au cours de la période 2008-2011, notre objet d'étude central restera le plancton eucaryote. Notre équipe continuera à mener des travaux autour du picoplancton (c.a.d. les cellules de taille $< 3 \mu\text{m}$), mais nous nous intéresserons aussi à des organismes de plus grande taille tels que les dinoflagellés (Fig. DPO1). Trois thèmes ont été identifiés, mais il est clair qu'ils comportent de nombreux recouvrements car souvent ils concernent les mêmes groupes taxonomiques étudiés avec une approche différente. Le premier thème se situe dans la continuité de notre analyse de la **diversité du plancton** par des approches culturelles et moléculaires développées à la fin des années 1990 par notre équipe. Nous prendrons cependant un angle plus conceptuel en nous intéressant aussi au concept d'espèce. Le second thème concerne la **distribution et l'écologie du picoplancton eucaryote** en particulier photosynthétique pour lequel nous manquons encore cruellement de données en milieu océanique. Le troisième thème vise à développer des approches plus récentes et concerne les **interactions entre les micro-organismes** en particulier entre hôtes et parasites chez les protistes.

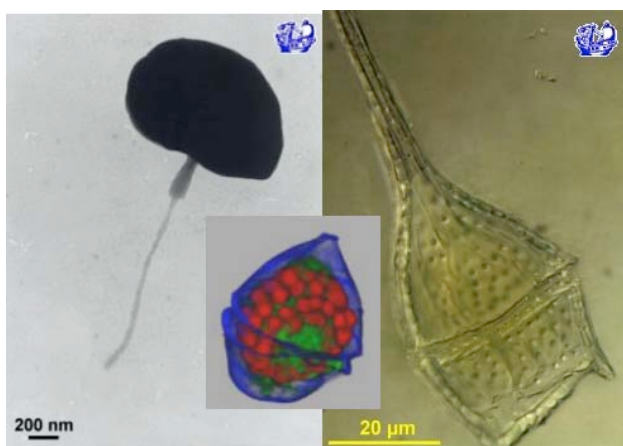


Fig. 1 : Quelques modèles planctoniques qui seront étudiés par l'équipe Diversité du Plancton Océanique pendant la période 2008-2011.

A gauche : *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), espèce ubiquiste du picoplancton.

A droite : un représentant du genre *Ceratium* (dinoflagellé), un modèle de choix pour étudier le concept d'espèces chez le plancton.

Au centre, le dinoflagellé *Scrippsiella trochoidea* infecté par un parasite appartenant au groupe des alvéolés de type II.

Projet scientifique concis 2009-2012

Thème 1 : Diversité, phylogénie et concept d'espèce chez le plancton eucaryote

Responsable : N. Simon¹

La diversité du plancton reste encore très mal connue, en particulier pour les plus petites classes de taille (le picoplancton) qui sont difficiles à cultiver et qui possèdent relativement peu de caractères morphologiques qui pourraient aider à leur identification. Même pour des groupes tels que les diatomées ou les dinoflagellés, la frontière entre les différentes espèces reste souvent difficile à établir. Pourtant, pouvoir déterminer de manière non ambiguë l'appartenance d'un organisme à un taxon donné est critique dans bien des cas, par exemple pour les espèces responsables d'efflorescences ou pour pouvoir utiliser une espèce comme indicateur de changement climatique. Pour étudier cette diversité il faut combiner mise en culture et analyse directe de la composition des populations naturelles. Au cours du prochain plan quadriennal, nous nous pencherons sur deux groupes d'organismes, d'une part le picoplancton eucaryote photosynthétique, à la base des chaînes alimentaires dans de nombreux écosystèmes, et les protistes des milieux extrêmes, qui présentent un intérêt fondamental du point de la reconstruction de l'arbre du vivant, ayant potentiellement gardé trace de caractères ancestraux. Les données ainsi accumulées nous permettront une analyse plus poussée du concept d'espèce chez le plancton.

a. *Le picoplancton eucaryote photosynthétique*

La découverte récente au sein du picoplancton de nouveaux groupes tels que les Picobiliphytes (Not et al. 2007), la mise en lumière d'une diversité insoupçonnée chez les groupes que l'on pensait bien connaître tels que les Prasinophyceae (Viprey, en prép.) et le fait que des groupes que l'on pensait insignifiants en milieu marin (Chrysophyceae) puissent y être abondants (Fuller et al. 2006), tous ces faits nous indiquent que nous sommes encore très loin de connaître la diversité des acteurs principaux de la production primaire dans de nombreux milieux océaniques. Nous continuerons donc notre effort d'inventaire de la diversité du picoplancton eucaryote photosynthétique.

Diversité culturelle

Notre équipe a privilégié depuis longtemps la mise en culture des organismes planctoniques avec la création de la Collection de Cultures de Roscoff il y a bientôt dix ans. La disponibilité de cultures est en effet indispensable pour caractériser et étudier les caractères morphologiques et physiologiques de ces organismes. Ainsi, une nouvelle espèce découverte dans le milieu par des méthodes génétiques sera beaucoup plus facile à décrire de manière formelle si elle est isolée en culture. La disponibilité de souches est aussi critique pour les études de génomique qui se développent de plus en plus sur le picoplancton eucaryote. De plus, une collection telle que celles de Roscoff peut être utilisée pour le criblage de molécules ayant un intérêt biotechnologique.

Nous venons de terminer la caractérisation des souches isolées dans le Pacifique Sud Est lors de la campagne BIOSOPE (Le Gall et al. soumis, **projet ANR PICOFUNPAC**). De nouvelles cultures isolées lors de la **campagne MICROVIR** (été 2007, mer du Nord) sont en cours de purification. Au cours du prochain quadriennal, nous comptons continuer à augmenter le nombre de souches de la Collection de Roscoff en effectuant des isollements lors des différentes **campagnes** auxquelles nous devons participer (**BOUM** en 2008 en Méditerranée, **MALINA** en 2009 dans l'Arctique canadien). De nouvelles souches de Prasinophycées seront isolées du Golfe du Lion (Méditerranée) et de la Manche dans le cadre de l'**ANR PICOVIR** (2007-2010). De plus, nous avons le projet d'incorporer dans la Collection de Roscoff, la collection de coccolithophoridés isolés par Ian Probert quand il était à Caen, ce qui devrait élargir la couverture phylogénétique de notre collection à un groupe clé du plancton marin.

¹ Un responsable a été indiqué par thème, mais l'ensemble des membres de l'équipe est en général impliqué à des degrés divers dans chaque thème.

A l'heure actuelle, la plupart des souches de la collection de Roscoff sont caractérisées par la séquence d'un fragment du gène de l'ARN ribosomal 18S. Ce gène permet en pratique d'identifier les cultures au niveau du genre et de rapidement repérer les souches correspondant à de nouvelles espèces. Cependant d'autres gènes peuvent être utilisés dans ce but de caractérisation. Dans le cadre du projet **Consortium for the Barcode of Life (CBOL)**, c'est le gène mitochondrial de la cytochrome c oxydase 1 (cox1) qui est utilisé. Nous participons à un projet international coordonné par R.A. Andersen (CCMP, Maine USA) visant à déterminer si ce gène, très utile chez les animaux et les plantes, peut être utilisé aussi pour caractériser les espèces de protistes. Plus d'une cinquantaine de souches de notre collection ont été sélectionnées pour être utilisées dans la phase pilote du projet. Si les résultats sont concluants, ce gène sera séquencé pour l'ensemble des souches de la collection afin de permettre un contrôle facile de l'identité des souches.

Un certain nombre de souches de la collection de Roscoff correspondent à de nouvelles espèces non décrites à ce jour en particulier chez les Prasinophyceae. Au cours du prochain quadriennal nous comptons faire un effort particulier de description de ces espèces ce qui impliquera des études morphologiques (microscopie électronique), pigmentaires et génétiques (**projet ANR PICOFUNPAC**) en collaboration avec nos collègues de l'**université d'Oslo**.

Diversité environnementale

La mise en culture des organismes planctoniques, qui reste très sélective, doit absolument être complétée par une analyse génétique directe des populations du milieu océanique. Dans ce but, c'est le gène de l'ARN 18S qui a été le plus utilisé jusqu'à présent et nous disposons désormais d'un grand nombre de données sur la communauté eucaryote dans son ensemble pour de nombreux environnements océaniques. Au cours du prochain quadriennal, nous continuerons à diversifier les milieux océaniques étudiés avec une emphase sur les zones polaires non couvertes précédemment (**campagne MALINA**, Arctique canadien, 2009).

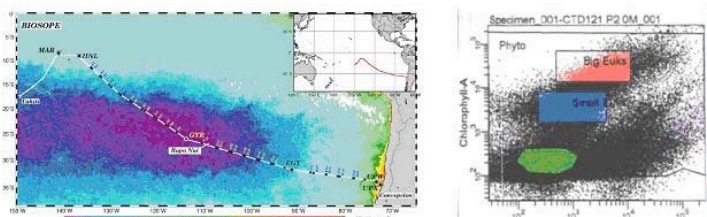
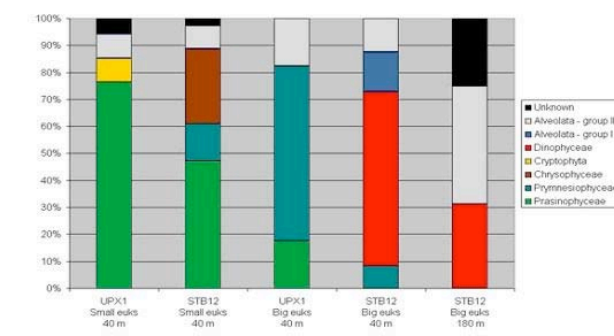


Fig. 2 : Composition de bibliothèques de clones eucaryotes (en bas au centre) obtenues sur des échantillons de picoplancton photosynthétique triés par cytométrie en flux (en haut à droite) au cours de la campagne BIOSOPE en 2004 (en haut à gauche).

Ces bibliothèques sont fortement enrichies en groupes photosynthétiques par rapport à des bibliothèques construites à partir d'échantillons filtrés où les groupes hétérotrophes dominent (Shi et Marie, non publié).



Cependant, l'un des problèmes avec l'approche utilisant des librairies de clones 18S universelles est qu'elle semble privilégier les organismes hétérotrophes par rapport aux autotrophes. Pour ces derniers, nous manquons encore cruellement de données. Afin de mieux les cibler, nous développons 3 approches différentes :

- création de librairie de clones du gène de l'ARN 18 S à partir de populations photosynthétiques triées par cytométrie en flux (Fig DPO2, **Post doctorat de Xiaoli Shi**),
- utilisation d'amorces de PCR ciblant préférentiellement des groupes taxonomiques photosynthétiques (par exemple Chlorophyta, **thèse de Manon Viprey**),
- utilisation du gène plastidial de l'ARN 16S (collaboration avec **D. Scanlan**, de l'**université de Warwick**).

Au cours du prochain quadriennal, ces approches dont certaines très prometteuses, telles que le tri (Fig. DPO2), devraient nous donner une meilleure image de la diversité génétique du picoplancton eucaryote photosynthétique.

b. Les protistes de l'extrême

La vie est apparue dans les océans il y a un peu plus de 3.5 milliards d'années. Les eucaryotes, tout d'abord microscopiques, sont apparus "tardivement", les premiers fossiles connus datant d'environ 1,5 milliards d'années. Au moment de leur apparition, l'atmosphère terrestre était alors encore pauvre en oxygène et en matière organique, mais riche en hydrogène sulfuré. De nombreux eucaryotes marins continuent à proliférer de nos jours dans des écosystèmes similaires, comme par exemple au niveau de couches anoxiques profondes et permanentes ou au niveau des sources hydrothermales des dorsales océaniques. Ce sont, de plus, des écosystèmes peu accessibles et très protégés des perturbations extérieures, en particulier humaines. Ces écosystèmes sont donc potentiellement des refuges pour des micro-organismes ayant retenu des caractères ancestraux. Ces organismes sont aussi capables de résister à de très fortes températures, ou à de très fortes concentrations en métaux lourds ou autres composés toxiques. Au cours de la **campagne Biospeedo** (2004), nous nous sommes intéressés aux nombreux protistes vivants en association avec des bivalves hydrothermaux. Nous avons également pu mettre en évidence la présence de bactéries à l'intérieur de certains de ces protistes. Dans le cadre du **projet ANR DeepOases** et de la **thèse d'Anne-Laure Sauvadet**, ces travaux seront développés et nous tenterons d'identifier ces protistes de l'extrême et de mieux cerner la nature de ces relations tripartites : métazoaire-protistes-bactéries.

c. Le concept d'espèce chez le plancton

La plupart des espèces du phytoplancton sont distinguées par des caractères morphologiques. Cependant, il existe de nombreux cas où l'identification des espèces morphologiques est difficile. Ainsi, de plus en plus d'espèces cryptiques (espèces non distinguées par des caractères morphologiques) ou pseudo-cryptiques (espèces distinguées par des caractères morphologiques très subtils) sont mises en évidence au sein du phytoplancton (Fawley et al. 2004, Amato et al. 2007) après l'examen d'autres caractères par exemple génétiques ou après des expériences de croisements entre souches. Pour d'autres espèces, la plasticité phénotypique est telle que la délimitation de groupes bien distincts devient extrêmement compliquée et fait intervenir une grande part de subjectivité de la part de l'observateur. Un tel flou sur l'identification des espèces est un frein majeur à de nombreuses études de biologie, d'écologie ou même de génomique du phytoplancton.

Au cours du prochain contrat quadriennal, nous étudierons, pour des taxons morphologiques modèles, l'étendue de la variabilité morphologique et génétique afin d'apporter une définition plus précise de l'espèce. Développer une telle problématique est cruciale dans la mesure où c'est au niveau de l'espèce comme unité naturelle que peuvent être le mieux compris l'écologie, la biogéographie et les processus d'évolution des organismes (Amato et al. 2007). Les taxons choisis sont des taxons cosmopolites de producteurs primaires, particulièrement bien représentés en milieux côtier : les genres *Ceratium* (microphytoplancton, Dinoflagellé) et *Micromonas* (picoplancton, Prasinophycée) appartenant à 2 phylums distincts et à 2 classes de taille contrastées. La diversité ainsi que la biogéographie de ces 2 genres ont été jusqu'à présent étudiées sur la base d'analyses morphologiques.

L'identification des *Ceratium* est actuellement fondée uniquement sur des critères morphologiques et est fortement remise en question par l'existence d'une très grande diversité de morphes au sein des espèces. Dans le cas de *Micromonas*, une diversité infra-spécifique importante a été récemment mise en évidence par des études de la diversité génétique (Slapeta et al. 2006) et il apparaît que ce taxon recèle des espèces cryptiques. Notre objectif est de répondre aux questions suivantes:

- a) Les espèces morphologiques identifiées classiquement au sein des assemblages de phytoplancton marin constituent-elles des groupes génétiquement homogènes ? Répondre à cette question conduira à mieux définir les contours des espèces dans le phytoplancton.
- b) S'ils existent, les différents types génétiques au sein d'un même taxon répondent-ils de façon distincte aux variations des facteurs environnementaux ? Répondre à cette question devrait permettre de mieux appréhender les préférences écologiques des taxons étudiés et

donc de mieux comprendre et prévoir leurs réponses faces aux variations des facteurs abiotiques et en particulier face aux changements globaux.

Ces travaux seront menés dans le cadre des **thèses d'Elodie Foulon** (2005-2008) et d'**Anne-Lise Cras** (2007-2010) en **collaboration avec des équipes de Villefranche-sur-Mer** dans le cadre des programmes **ANR AQUAPARADOX** et « **Ecosphère continentale et côtière** » **MICROBIEN** (Diversité génétique du phytoplancton marin côtier).

d. Plankton*Net : mettre la taxinomie en ligne

Jusqu'à présent, la majorité de l'information taxinomique réside soit dans des ouvrages de référence, soit dans des articles scientifiques. Cependant cette information est de plus en plus difficile d'accès. De plus toute mise à jour (par exemple la réédition d'un ouvrage) est très lente et incompatible avec le rythme actuel de la science. Il est donc critique que cette information devienne rapidement disponible sur Internet. Dans le cadre du projet **PlanktonNet** financé par l'Europe jusqu'en 2008 et associant **trois partenaires européens**, nous avons commencé à mettre en ligne un certain nombre d'images d'organismes phytoplanctoniques reliés à des informations taxonomiques (description, phylogénie). Ce projet par essence communautaire (il est très facile pour toute équipe intéressée de mettre en ligne les images et les informations dont elle dispose sur des espèces données) est appelé à se développer dans les années à venir. Des projets européens sont en cours de soumission sur cette thématique et il pourrait s'intégrer à terme dans un projet très ambitieux appelé « Encyclopedia of Life » (EOL, <http://www.eol.org/>) visant à créer une encyclopédie universelle du monde vivant.

Thème 2 : Distribution et écologie du picoplancton eucaryote

Responsable : D.Vaulot

Grâce à la combinaison des approches culturelles et environnementales, nous commençons à bien connaître la diversité de certains groupes du picoplancton eucaryote. Pour ces groupes, l'étape suivante consiste à déterminer leur distribution dans le milieu océanique en fonction des différents gradients environnementaux présents (température, lumière, éléments nutritifs). Dans ce contexte, l'utilisation de sondes moléculaires détectées par des méthodes telles que le FISH (hybridation *in situ*) ou la PCR quantitative fournissent des informations précieuses. Les données biogéographiques ainsi assemblées permettent d'émettre des hypothèses concernant la niche des principales espèces (ou des éventuels écotypes dans le cas des espèces ubiquistes), hypothèses qui peuvent être testées par des analyses physiologiques en culture. Une autre voie pour mieux comprendre l'écophysiologie des organismes les plus importants dans le milieu est constituée par les approches génomiques, en particulier métagénomiques, voie dans laquelle notre équipe commence à s'engager.

a. Biogéographie

Pour l'instant la technique la plus est utilisée par notre équipe pour déterminer la distribution des principaux groupes du picoplancton est l'analyse d'échantillons naturels au moyen de sondes moléculaires 18S spécifiques de taxons par FISH. Peu à peu, nous développons et validons des sondes ciblant à la fois des entités taxonomiques larges (classe, ordre) mais aussi de groupes génétiques distingués au sein d'espèces ubiquistes (*Micromonas*). Ces sondes sont ensuite appliquées à différents écosystèmes et au cours du prochain quadriennal les environnements suivants seront étudiés :

- milieu côtier au large de Roscoff (**suivi SOMLIT**)
- Golfe du Lion (**ANR PICOVIR**)
- mer du Nord (échantillons obtenus lors de la campagne MICOVIR en 2007, **thèses de S. Masquelier et E. Foulon**)
- océan Pacifique Sud-Est (échantillons obtenus lors de la campagne BIOSOPE en 2004, **thèse de S. Masquelier**)
- océan Arctique (campagne **MALINA** prévue en 2009).

Une autre approche que nous avons commencée à développer il y a quelques années est la PCR quantitative (Zhu et al. 2005) qui permet d'analyser beaucoup plus rapidement un grand nombre d'échantillons mais produit des données plus difficiles à interpréter que celles obtenues

par FISH, en particulier à cause du nombre variable de copie du gène de l'ARN 18S chez les organismes du plancton. Nous comptons recommencer les développements dans ce domaine (**post doc X. Shi**).

b. Génomique et métagénomique

La capacité d'adaptation d'un organisme est déterminée par la composition de son génome. Il y a encore peu les approches génomiques étaient limitée aux procaryotes, favorisés par la taille réduite de leur génome. Elles s'étendent désormais rapidement aux eucaryotes à la suite en particulier de la publication des génomes de la Prasinophyceae *Ostreococcus tauri* et de la diatomée *Thalassiosira pseudonana* (Armbrust et al. 2004, Derelle et al. 2006). Notre équipe est impliquée dans l'annotation du génome de souches de *Micromonas*, l'une des espèces les plus ubiquistes du picoplancton, en particulier en ce qui concerne les gènes liés à la photosynthèse (**collaboration A. Worden, MBARI USA, et thèse E. Foulon**).

Cependant, pour les raisons invoquées ci-dessus il apparaît critique de pouvoir appliquer ces approches de génomique à des populations naturelles. Or du fait de la grande taille du génome de la plupart des organismes eucaryotes, il est encore difficilement concevable de faire de la métagénomique sur l'ensemble des micro-organismes du milieu. Par contre la cytométrie en flux offre un moyen très puissant d'isoler des organismes du milieu. On peut alors amplifier leur génome (WGA pour whole genome amplification) et le séquencer. Cette approche vient d'être appliquée avec succès sur des bactéries (Stepanaukas and Sieracki 2007) et nous comptons la développer pour les eucaryotes photosynthétiques du picoplancton, dont la taille, et donc le génome, est faible. L'obtention de génome entier d'organismes triés par cytométrie en flux devrait nous fournir des données d'une valeur inestimable sur la physiologie et par conséquent la niche des organismes ciblés.

Thème 3 : Interactions chez les protistes marins : virus et parasitisme

Responsable : L. Guillou

La structure des communautés microbiennes océaniques est régie par les innombrables interactions entre ses membres. Certaines de ces interactions comme la prédation ont été relativement bien étudiées, bien que souvent les modèles utilisés soient peu représentatifs des communautés naturelles. D'autres interactions, telles que les attaques virales, ont reçu un intérêt accru au cours des 10 dernières années. Mais des mécanismes tels le parasitisme n'ont jusqu'à présent pas reçu toute l'attention qu'ils méritaient bien que les études récentes de diversité génétique du plancton marin suggèrent que le parasitisme pourrait être un phénomène très répandu. Au cours du prochain quadriennal, nous comptons développer deux directions. Premièrement, nous nous pencherons sur les virus spécifiques des Prasinophyceae pour comprendre leur rôle dans le contrôle des populations. Deuxièmement nous nous intéresserons aux alvéolés de type II (proches du genre *Amoebophrya*), dont les approches moléculaires nous ont révélé l'ubiquité et la très grande diversité génétique (Grosillier et al. 2006) et qui semblent jouer un rôle capital pour le contrôle des populations planctoniques, en particulier celles de dinoflagellés.

a. Les virus des Prasinophycées

Les Prasinophycées picoplanctoniques (et en particulier les genres *Micromonas*, *Ostreococcus* et *Bathycoccus*) ont colonisé tous les océans. Le genre *Micromonas*, en particulier, est un composant majeur du picoplancton dans des milieux côtiers comme les côtes de la Manche (Not et al. 2004), et ceci, tout au long de l'année. Si la distribution de ces taxons commence à être connue, les facteurs environnementaux qui contrôlent leur développement sont totalement inconnus. Les virus constituent des agents biologiques capables d'infecter des espèces phytoplanctoniques et de réguler de façon très efficace le développement de leurs hôtes en milieu marin. La plupart des virus capables d'attaquer des espèces phytoplanctoniques sont des phycodnavirus, des virus de grande taille, à ADN, nucléaires et cytoplasmiques. La structure des assemblages des couples hôtes-virus, la dynamique de leurs populations et leurs cycles de vie restent mal connus. Il n'existe par ailleurs quasiment aucune information sur les flux de gènes à l'intérieur de ces populations et entre populations. Au cours du prochain quadriennal, nous travaillerons sur les interactions entre les Prasinophycées et les virus qui les infectent dans le

cadre des **programmes MICROVIR** (2006-2008, resp : **C. Brussard, NIOZ, Pays-Bas**) et **ANR PICOVIR** (2008-2010, resp. : **N. Grimsley, Banyuls/mer**).

Dans le cadre de ces 2 programmes nous étudierons les aspects suivants des interactions hôtes/virus chez les Prasinophycées (**thèse E. Foulon et post-doctorant à recruter**):

- spécificité des interactions hôtes/virus par des travaux sur des cultures à l'aide de souches isolées en Manche et dans le Golfe du Lion,
- suivi de la dynamique des hôtes en Manche et dans le Golfe du Lion à l'aide de sondes moléculaires,
- co-évolution hôte-virus par l'étude de leur génome.

b. Les dinoflagellés et leurs parasites alvéolés

Entre 2004 et 2007, nous avons suivi le co-développement du dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* et de son parasite en baie de Penzé grâce à l'utilisation de sondes oligonucléotidiques fluorescentes. Cette étude nous a permis de mieux comprendre in situ l'impact de ce parasitoïde sur les populations hôtes et de mettre en place d'un modèle afin de mieux décrypter l'importance de multiples facteurs biotiques ou abiotiques (**collaboration avec David Montagnes et Andrew Fenton, Université de Liverpool**). Nous avons également amorcé des **collaborations avec le Chili (projet ECOS Sud soumis)** et avec **l'université de Montpellier 2 (projet EC2CO)** afin de voir comment notre modèle peut s'appliquer à d'autres espèces toxiques d'*Alexandrium*.

Alexandrium minutum n'est pas la seule micro-algue à être infestée par ce parasite : toutes les espèces de dinoflagellés sont touchées. D'année en année, nous avons pu observer en baie de Penzé une succession d'espèces de dinoflagellés hautement reproductible. Chaque pic d'une espèce est suivi par un pic de la phase libre du parasite dans le milieu naturel. Au cours du prochain plan quadriennal, nous comptons décrypter la spécificité de ces interactions hôte-parasites et mieux comprendre le mécanisme de cette dynamique si prédictible (projet **ANR AQUAPARADOX**). Pour cela, nous avons pu, grâce à l'aide précieuse de **Wayne Coats (Maryland, USA)**, isoler en 2007 plusieurs souches d'un parasite capable d'infester le dinoflagellé *Scrippsiella trochoidea*. Ces cultures vont nous permettre d'étudier finement ces interactions, au niveau moléculaire. Dans le cadre d'un **projet financé par le GIS Génomique marine** et dans celui de la **thèse d'A. Chambouvet**, nous nous intéresserons plus particulièrement aux premières étapes de l'infection : quels sont les sites de reconnaissances spécifiques permettant aux parasites de déterminer avec précision l'identité de son hôte, comment le parasite va-t-il prendre le contrôle de son hôte, et quelles sont les mécanismes de défense, s'ils existent, mis en place par l'hôte ?

Masters et Ecole doctorale de rattachement

- Master de Sciences et Technologies mention « Sciences de l'univers, environnement, écologie » de l'Université Pierre et Marie Curie
- Master de Microbiologie, Université de Bretagne Occidentale
- Ecole doctorale Diversité du Vivant, Université Pierre et Marie Curie

Expression des Besoins

Notre besoin le plus criant concerne le **manque d'espace de bureau et de laboratoire**. Notre espace est totalement mutualisé au sein du groupe Plancton regroupant les trois équipes DPO, PPM et EPPO et totalisant 10 permanents et un total de 35 personnes y compris CDD, post-docs et étudiants. Cette mutualisation assure une gestion totalement optimale de l'espace disponible avec de nombreux équipements communs (PCR, gels, centrifugeuses etc). Malgré cela, chaque bureau est occupé par 4 personnes et deux personnes se partagent chaque bout de paillasse. La contrainte devient si forte qu'une partie des chercheurs travaillent à la maison et qu'il nous faut renoncer à accueillir tout stagiaire de Master 1 ou ceux financés par des programme d'échange (par exemple coopération avec la NSF). Encore plus grave, nous n'avons pas de place pour accueillir les jeunes chercheurs recrutés par le CNRS au sein du Groupe Plancton (F. Not

recruté dans l'équipe EPPO en 2007). Ce qui est le plus absurde, c'est que de nombreux locaux sont disponibles dans la Station (en particulier chambres du 3^e étage du laboratoire GT) qui pourraient être très rapidement convertis en bureaux ou laboratoires. Il est donc critique que des décisions soient prises rapidement pour optimiser l'utilisation des locaux existants sans attendre les nouveaux locaux (Institut de Génomique Marine) qui ne seront opérationnels que dans quelques années.

Equipement

- Cytomètre en flux analyseur (inscrit au CPER)
- Microscope à épifluorescence (inscrit au CPER)
- Equipement de cryo-préservation de cultures algales (inscrit au CPER)

Personnels

- Assistant de laboratoire mettant en œuvre des techniques telles que PCR, séquençage, HPLC etc. partagé entre les trois équipes du groupe Plancton (DPO, PPM et EPO). – Niveau AI CNRS.
- Ingénieur de Recherche dans le domaine de la Biologie Moléculaire pour développer et mettre en œuvre des approches de type Whole Genome Amplification, PCR quantitative ou Puces Phylogénétiques.

Références citées

- Amato, A., Kooistra, W., Ghiron, J. H. L., Mann, D. G., Proschold, T. & Montresor, M. 2007. Reproductive isolation among sympatric cryptic species in marine diatoms. *Protist* 158:193-207.
- Armbrust, E. V., Berges, J. A., Bowler, C., Green, B. R., et al. 2004. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: Ecology, evolution, and metabolism. *Science* 306:79-86.
- Derelle, E., Ferraz, C., Rombauts, S., Rouze, P., et al. 2006. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103:11647-52.
- Fawley, M. W., Fawley, K. P. & Buchheim, M. A. 2004. Molecular diversity among communities of freshwater microchlorophytes. *Microb. Ecol.* 48:489-99.
- Fuller, N. J., Tarran, G., Cummings, D., Woodward, M., Orcutt, D. M., Yallop, M., Le Gall, F. & Scanlan, D. J. 2006. Molecular analysis of photosynthetic picoeukaryote community structure along an Arabian Sea transect. *Limnol. Oceanogr.* 51:2502-14.
- Groissillier, A., Massana, R., Valentin, K., Vaultot, D. & Guillou, L. 2006. Genetic diversity and habitats of two enigmatic marine alveolate lineages. *Aquat. Microb. Ecol.* 42:277-91.
- Not, F., Latasa, M., Marie, D., Cariou, T., Vaultot, D. & Simon, N. 2004. A single species *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae) dominates the eukaryotic picoplankton in the western English Channel. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:4064-72.
- Not, F., Valentin, K., Romari, K., Lovejoy, C., Massana, R., Töbe, K., Vaultot, D. & Medlin, L. 2007. Picobiliphytes, a new marine picoplanktonic algal group with unknown affinities to other eukaryotes. *Science* 315:252-4.
- Slapeta, J., Lopez-Garcia, P. & Moreira, D. 2006. Global dispersal and ancient cryptic species in the smallest marine eukaryotes. *Mol. Biol. Evol.* 23:23-9.
- Stepanaukas, R. & Sieracki, M. E. 2007. Matching phylogeny and metabolism in the uncultured marine bacteria, one cell at a time. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104:9052-7.
- Zhu, F., Massana, R., Not, F., Marie, D. & Vaultot, D. 2005. Mapping of picoeucaryotes in marine ecosystems with quantitative PCR of the 18S rRNA gene. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52:79-92.

Equipe Procaryotes PhotoSynthétiques Marins PPSM

Responsable: Frédéric Partensky

Composition prévue en 2008 / 2009

Personnel Permanent	Grade	Personnel Temporaire	Période
GARCZAREK Laurence	CR	BLOT Nicolas, P	> 12/08
JEANTHON Christian	DR, HDR	BOUTTE Christophe, P	> 12/08
PARTENSKY Frédéric XX, MC prévu Sep 08	DR, HDR MC	LEHOURS Anne-Catherine, P	10/07-09/09
LE GALL Florence	AI, 25%	KOLOWRAT Christian, D	10/06-
MARIE Dominique	IR, 25%	MELLA Daniela, D	09/07-
		DAHAN Océane, D	10/07-
		PEYRAT Anne, IE C	> 02/08
		GOURVIL Priscillia, AI C (30%)	> 12/09

Perspectives 2008-2012

Notre équipe va poursuivre ses recherches sur les organismes procaryotes écologiquement importants dans l'océan : 1) les cyanobactéries marines des genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, mais aussi (au moins au niveau génomique) d'autres cyanobactéries comme *Crocospaera* dont la distribution est plus sporadique, mais qui a la particularité de fixer l'azote et dont le rôle dans le cycle de cet élément pourrait être significatif dans certaines régions de l'océan mondial, 2) les bactéries phototrophes anoxygéniques aérobies (PAA) et 3) à plus long terme, les bactéries phototrophes à protéorhodopsine.

Nous allons continuer à avancer sur les quatre thématiques développées précédemment (voir bilan) mais en mettant l'accent sur les approches de post-génomique pour les cyanobactéries et d'écologie moléculaire pour les autres modèles biologiques.

Thème 1 : Génomique comparative et évolution des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont non seulement très importantes d'un point de vue écologique mais également du point de vue évolutif, puisque ce sont les premiers organismes à avoir réalisé la photosynthèse oxygénique, et c'est donc grâce à elles que l'atmosphère terrestre s'est enrichie en oxygène permettant le développement des animaux terrestres et marins. Onze génomes de *Synechococcus* marins et onze de *Prochlorococcus* sont actuellement disponibles (Fig. PPSM1) et plusieurs autres sont planifiés ou en cours de séquençage. Par ailleurs, plus de 35 autres génomes de cyanobactéries (marines ou non) sont ou seront bientôt disponibles. Ceci inclut le génome de *Prochloron didemni*, un symbionte d'ascidie qui, comme *Prochlorococcus*, a remplacé ses phycobilisomes par des complexes Pcb-chlorophylle *a/b*. L'équipe participe activement à son annotation. Nous avons donc désormais accès à une source considérable d'information génomique qui devrait nous permettre de mieux comprendre l'origine des cyanobactéries et de la photosynthèse.

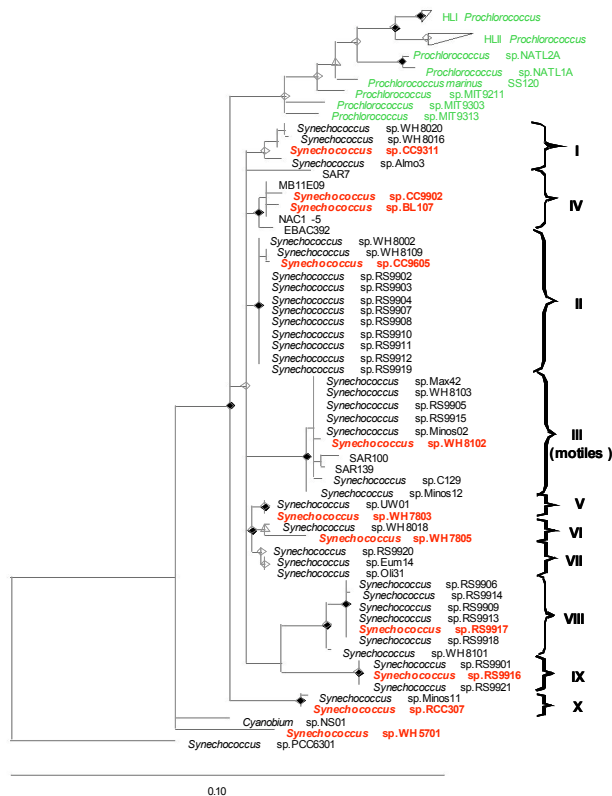


Fig. 1: Arbre phylogénétique du gène de l'ARNr 16S montrant la position des picocyanobactéries marines des genres *Prochlorococcus* et *Synechococcus*. Les souches de *Prochlorococcus* et de *Synechococcus* dont les génomes sont entièrement séquencés figurent en vert et en rouge, respectivement). Les chiffres romains correspondent aux différents clades de *Synechococcus*.

Dans ce but, nous allons donc continuer à effectuer des analyses génomiques globales (core genome, pan-genome, détection des îlots géniques, etc.) afin d'avoir une meilleure idée des processus d'évolution des génomes dans leur ensemble. Mais nous allons aussi explorer des fonctions spécifiques, à commencer par une étude systématique des gènes de phycobilisomes chez toutes les cyanobactéries marines. Par la suite, nous nous intéresserons aux gènes de stress oxydatif et à ceux du cycle cellulaire, ainsi qu'aux réseaux de régulation qui les contrôlent. L'un de nos buts est de mieux comprendre les bases moléculaires des différences entre le cycle cellulaire des bactéries (qui est indépendant de la lumière) et celui des cyanobactéries (qui est en phase avec le rythme jour-nuit ; voir thème 3).

Thème 2 : Biochimie et génétique des complexes collecteurs de la lumière

L'étude des complexes antennaires, qui sont les composants les plus variables de l'appareil photosynthétique, est une des spécialités de l'équipe PPSM. Nous avons progressé énormément sur la structure et le fonctionnement des antennes des écotypes de basse et de forte lumière de *Prochlorococcus* et d'*Ostreococcus*, mais beaucoup reste à faire sur les phycobilisomes, le type d'antenne présent chez les cyanobactéries marines « typiques ». Dans les années à venir, nous allons essayer de perfectionner les modèles structuraux des différents types de phycobilisomes des *Synechococcus* marins mais aussi d'autres cyanobactéries, comme *Crocospaera*. Par ailleurs, nous allons étudier les mécanismes de biosynthèse de différents composants des phycobilisomes, notamment la phycoérythrine II qui a des caractéristiques spécifiques, telles que la présence de phycourobiline. Les comparaisons génomiques ont révélé un certain nombre de gènes nouveaux, dont des lyases (enzymes fixant les phycobilines à des

sites spécifiques des phycobiliprotéines) et nous allons essayer de caractériser leur spécificité par des approches de biologie moléculaire (mutagénèse et/ou surexpression de gènes dans des systèmes hétérologues) et biochimiques (purification de phycobiliprotéines). Cet axe a déjà débuté dans le cadre du projet ANR PhycoSyn (2006-2008).

Par ailleurs, en collaboration avec David Kehoe (University of Indiana), nous allons essayer de mieux comprendre les bases moléculaires de l'adaptation chromatique de type IV (voir bilan et Everroad et al. 2006), dont l'importance écologique est encore inconnue. La disponibilité de 4 génomes complets de ce type pigmentaire (BL107, CC9902, CC9311 et RS9916), ainsi que d'une souche qui semble avoir perdu cette capacité récemment (RCC307) devrait nous permettre d'identifier les principaux gènes impliqués (gènes de biosynthèse des phycobilines, lyases, régulateurs, senseurs de lumière). Nous caractériserons leur rôle par différentes approches expérimentales (cinétique d'expression génique après passage de lumière bleue à blanche, inactivation des gènes, caractérisation des propriétés optiques et photosynthétiques de mutants, surexpression hétérologue, etc.).

Thème 3 : Diversité fonctionnelle des cyanobactéries marines et acclimatation aux facteurs environnementaux

Au cours du prochain plan quadriennal, l'étude de la réponse à divers facteurs environnementaux sur des souches de laboratoire sera poursuivie à l'aide d'outils récemment développés. Dans le cadre de Synchips, un projet Flagship du réseau d'excellence Marine Genomics Europe, nous avons en particulier développé une puce à ADN ciblant l'ensemble du génome de *Synechococcus* sp. WH7803. Cette puce comprend 1 à 5 oligonucléotides par gène et les conditions d'hybridation et d'analyse ont d'ores et déjà été optimisées. Cette approche sera prochainement utilisée pour caractériser la réponse transcriptomique de *Synechococcus* à la lumière (fortes lumières visibles, UV) ou au stress oxydatif (H_2O_2 , méthyl viologène). Outre les données ancillaires habituellement récoltées (taux de croissance, contenu pigmentaire, activité photosynthétique), un accent particulier sera mis sur les mécanismes de réparation de l'ADN et de photoprotection (réparation de D1, pigments photoprotecteurs) en utilisant des approches de biochimie (immunoblots quantitatifs) et de biophysique (activité photosynthétique mesurée par fluorimétrie). Dans un deuxième temps, la mutagenèse sera utilisée pour identifier les acteurs des réseaux de régulation transcriptionnelle impliqués dans les réponses à ces stress.

La dynamique de réponse des cellules aux fortes lumières et aux UV sera également examinée sur des souches cultivées en conditions de lumière jour-nuit modulée. Dans ce but, nous avons récemment construit un « cyclostat », c'est-à-dire un système d'illumination contrôlé par ordinateur et permettant une modulation indépendante de la lumière visible, des UV-A et des UV-B (avec contrôle de l'intensité maximale, de la photopériode, etc.). Cet appareil, qui permet de simuler les conditions naturelles de lumière dans la couche superficielle de l'océan, nous permettra d'étudier l'orchestration de l'expression des gènes au cours du cycle jour-nuit et d'analyser les effets respectifs de ces trois sources lumineuses. La réponse transcriptomique sera analysée par puce à ADN pour *Synechococcus* sp. WH7803 ou par PCR en temps réel pour d'autres picocyanobactéries d'intérêt (en ciblant des gènes intervenant dans différents processus physiologiques : heat shock, photosynthèse, photoprotection, protection contre les espèces réactives de l'oxygène, réparation des dommages à l'ADN, etc.). D'autres données ancillaires (listées ci-dessus) seront également mesurées afin d'étudier les inter-relations entre le cycle cellulaire, le taux de croissance, et leur contrôle transcriptionnel. Nous espérons identifier de subtiles différences dans les mécanismes de régulation de ces organismes qui pourraient expliquer leur succès dans différentes niches écologiques. Par ailleurs, le « cyclostat » nous permettra également de comparer le rythme circadien entre *Prochlorococcus*, un mutant naturel d'un des trois gènes de l'horloge circadienne (*kaiA*), et *Synechococcus* qui possède tous les gènes de l'horloge (*kaiABC*).

Un autre facteur environnemental que nous étudierons est la température. Le groupe Plancton Océanique a récemment acquis un système constitué de plaques d'aluminium et de bains thermostatés qui permet de simuler des gradients de température et de déterminer la température optimale de croissance de différentes souches. Nous utiliserons ce système pour mieux définir la niche écologique des souches de *Synechococcus* en culture, et nous compléterons cette étude par des analyses d'expression sur des gènes sélectionnés.

Enfin, nous comptons également développer les approches *in situ*. Les études menées au laboratoire devraient permettre d'identifier des marqueurs moléculaires de différentes conditions de stress chez les picocyanobactéries. Après vérification de leur spécificité au laboratoire, ces marqueurs seront quantifiés *in situ* par PCR en temps réel à partir d'ADN ou d'ADNc (après reverse transcription) d'échantillons naturels. De façon concomitante, des marqueurs de diversité (e.g. ARNr 16S, région « ITS » ou gènes de phycobilisomes spécifiques de différents types pigmentaires) seront quantifiés sur les mêmes échantillons par PCR en temps réel de façon à mieux comprendre les liens entre la diversité génétique et/ou pigmentaires et le statut physiologique des populations naturelles soumises à des stress environnementaux variés (e.g. exposition aux UVs, température, carence en nutriments). Par ailleurs, en collaboration avec Osvaldo Ulloa (Université de Concepcion, Chili) et Ondrej Prasil (Institut de Microbiologie, Trebon, République tchèque) qui possèdent des outils performants de mesure de l'oxygène, nous allons nous intéresser à la production d'oxygène des souches et des populations naturelles de *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, afin de mieux évaluer la part jouée par ces organismes dans le cycle de l'oxygène.

Un projet européen dont nous sommes partenaires, Cygernet, a été récemment déposé dans le cadre de l'appel d'offres FP7-KBBE-2007-1 « Microbial gene expression under condition of stress » du programme européen « Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology » et a passé le 1^{er} stade de la sélection. S'il est accepté, il nous permettra de financer une grande partie des sujets énoncés dans le cadre du thème 4, y compris la modélisation des réseaux de régulation génique, qui est à cheval entre les thèmes 1 et 4.

Thème 4 : Dynamique et diversité des bactéries phototrophes anoxygéniques aérobies (PAA)

La mise en lumière de l'importance écologique des bactéries PAA est récente et l'état actuel de nos connaissances est très largement insuffisant pour évaluer correctement l'impact de leur présence et de leur activité sur le fonctionnement des systèmes océaniques. Nos objectifs seront donc de continuer à établir les liens existant entre les paramètres de l'environnement, leur abondance et leur diversité en milieu côtier et d'étendre ces questions au domaine océanique, en particulier dans des régions où leur importance écologique n'a pas encore été explorée. Nous comparerons l'importance écologique des bactéries PAA dans les différentes situations trophiques existant en Méditerranée, une des mers les plus oligotrophes du monde, ainsi que dans l'Océan Indien et dans l'Arctique². Dans le cadre de ces projets, nous quantifierons les bactéries PAA à l'aide d'analyses indépendantes et complémentaires (fluorimétrie, quantification de pigments, microscopie à épifluorescence infra-rouge et PCR quantitative) et analyserons leur diversité par l'application conjuguée de méthodes de culture et moléculaires basées sur le gène *pufM*. La DGGE sera par exemple utilisée pour identifier les variations spatiales (horizontales et verticales) et temporelles (cycles journaliers) de la diversité des bactéries PAA et pour sélectionner des échantillons les plus pertinents pour la construction des banques de clones environnementaux. Couplée à la fluorimétrie, elle permettra également d'orienter les efforts de culture.

² La campagne BOUM (Biogéochimie de l'Oligotrophie à l'Ultra-oligotrophie Méditerranéenne) programmée en 2008 et à laquelle nous participerons nous fournira des échantillons le long du gradient d'oligotrophie (en particulier N, P) en Méditerranée ; elle offrira une occasion unique pour comprendre les interactions fondamentales entre les cycles biogéochimiques et la structure des populations de bactéries photohétérotrophes. Les échantillons de l'Océan Indien et de l'Arctique ont été collectés au cours de campagnes précédentes.

Les bactéries PAA constitue un groupe fonctionnel ubiquiste en milieu pélagique qui présente une grande diversité phylogénétique puisque les inventaires moléculaires ont montré que ses représentants formaient 12 groupes phylogénétiques répartis dans les trois sous-classes majeures (α , β et γ) des Protéobactéries. La distribution de ces phylotypes s'avère extrêmement hétérogène selon les régions océaniques étudiées et il n'existe actuellement pas de représentant cultivé pour la plupart d'entre eux, et en particulier pour les plus abondants (Yutin *et al.*, 2007, *Environ. Microbiol.* 9 :1464-1475). Afin d'étudier la diversité fonctionnelle de ces phylotypes, nous développerons de nouvelles approches de culture afin de les isoler en mettant principalement l'accent sur deux paramètres déterminants, la source de carbone et l'intensité lumineuse. Par exemple, des isollements seront effectués à partir de supports nutritifs déployés à la surface et aux profondeurs correspondant aux pics de concentration de bactériochlorophylle *a* de différentes stations d'observation. Les milieux de culture contenant des extraits cellulaires de différents types de producteurs primaires (cyanobactéries, micro-algues) ou de sources de carbone variées à des concentrations compatibles avec celles mesurées dans l'environnement exposés sous différentes intensités lumineuses seront évalués. Des représentants de chaque groupe phylogénétique seront criblés pour leur utilisation d'une large gamme de substrats afin de déterminer leur implication potentielle dans les cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre. Lorsque des phylotypes particuliers mis en évidence par l'approche moléculaire seront réfractaires à la mise en culture, nous envisageons d'utiliser l'approche d'amplification de génomes après tri cellulaire au cytomètre en flux pour caractériser leurs fonctions (Stepanauskas & Sieracki, 2007, *PNAS*, 104 :9052-9057). Ces expériences qui viseront à identifier dans les génomes d'organismes incultivés des marqueurs de diversité et des gènes de fonction ne seront menées qu'à partir des échantillons environnementaux les plus pertinents.

La distribution ubiquiste de ces organismes suggère qu'ils possèdent des stratégies efficaces pour répondre aux changements environnementaux. Dans le contexte actuel de changement global, il nous apparaît important d'évaluer l'incidence de perturbations (climatique et anthropique) sur leur devenir. Pour cela, des populations naturelles de bactéries PAA seront transférées dans des chémostats où des cultures en continu seront maintenues pendant plusieurs semaines. Ces cultures seront soumises à l'effet de paramètres simulant les changements environnementaux (augmentation de la température, de l'exposition aux UV et de la concentration en CO₂ et en matière organique). Les conséquences de ces changements seront analysées en suivant l'évolution de différents descripteurs comme l'abondance, la diversité et l'activité photosynthétique (fluorimétrie).

Ces projets seront menés en collaboration principalement avec les équipes de Philippe Lebaron (Banyuls), France Van Wambeke (Marseille), Michal Koblizek (Institut de Microbiologie, Trebon) et David Kirchman (Université de Lewes, USA).

A plus long terme, nous prolongerons nos travaux sur les procaryotes phototrophes marins en étudiant les bactéries contenant de la protéorhodopsine. Les protéorhodopsines sont des pompes à protons transmembranaires dépendante de la lumière qui interviennent dans le métabolisme bactérien en capturant l'énergie lumineuse pour la transformer en ATP. Les bactéries marines qui synthétisent ces molécules ont été récemment découvertes et elles constituent les procaryotes les plus abondants de l'océan mondial (Rusch *et al.*, 2007, *PLoS Biol.* 5 :e77). Nos recherches viseront à étudier les stratégies mises en place par ces organismes pour comprendre leur diversification phylogénétique et leur large distribution géographique.

Expression des Besoins

Besoins en Personnel

Chercheurs

- 1 MC Paris 6 (priorité 1 de la SBR en 2008) « Caractérisation biochimique et génétique des complexes pigments-protéines et des mécanismes de régulation de leur synthèse ».

- 1 CR « Diversité fonctionnelle des bactéries photohétérotrophes à protéorhodopsine »

Ingénieurs

- 1 IE en biologie moléculaire pour continuer à développer les techniques de PCR quantitative et les puces à ADN. Besoin prioritaire pour l'équipe PPSM.
- 1 AI chargé de la gestion du laboratoire et de l'entretien de la collection de cultures (30% équipe PPSM, poste mutualisé avec les équipes DIPO et EPPO)

Equipe Evolution du Plancton et PaléoOcéans EPPO

Responsable: Colombar de Vargas

Composition en 2008 / 2009

Personnel Permanent		Personnel Temporaire	période
DE VARGAS Colombar	CR	FRADA Miguel, D	> 12/08
NOT Fabrice	CR, 12/07-	PAGARETE Antonio, D	> 11/09
VON DASSOW Peter	CRA 12/07-11/09		
		GOURVIL Priscilla, AI C (30%)	> 12/09
		PROBERT Ian, IR C	> 04/09

Perspectives 2008-2012

Les quatre thématiques centrales mentionnées dans la partie « bilan » seront poursuivies et développées jusqu'en 2012, tout en donnant plus de poids au thème 2 (sexes et cycle de vie) durant la période 2008-2009, et au thème 4 (endosymbiose eucaryote pélagique) dans les années 2010-2012. En effet, nous pensons que ces deux sujets sont pour l'essentiel méconnus aussi bien en biologie générale des eucaryotes qu'en océanographie biologique. Or ils apporteront très probablement des résultats d'une importance fondamentale en ce qui concerne la question de la diversité génétique/génomique générée par la pression de sélection intra-spécifique liée à l'alternance des stades de vies haploïde et diploïde, et la question du transfert d'information, génétique ou épigénétique, entre cellules eucaryotes en symbiose. Ces deux mécanismes, l'un typiquement eucaryote et l'autre classiquement attribué aux procaryotes, pourraient se révéler être des forces évolutives et écologiques extrêmement importantes.

Thème 1 : Diversités génétique, morphologique, et physiologique des eucaryotes unicellulaire pélagiques calcaires.

Tout d'abord, nous allons faire en sorte que les objectifs de notre programme international *BOOM* (voir bilan EPPO) soient atteints. Nous allons donc :

- comme pour la fraction picoplanctonique, utiliser des protocoles appropriés pour révéler la diversité génétique des haptophytes du nannoplancton, et comparer cette diversité génétique à la diversité morphologique des coccolithes et coccosphères.
- pour certaines espèces, ou groupes d'espèces clefs, étudier la distribution hydrographique et biogéographique globale des types génétiques cachés sous un même morphotype.
- poursuivre l'étude de l'évolution de la taille des génomes chez les haptophytes et plus particulièrement les coccolithophores, à divers niveaux taxonomiques. Nous tenterons entre autre de résoudre la question de la variabilité observée des tailles de génome chez la très jeune espèce morphologique *E. huxleyi* (270,000 ans).
- achever nos études de la diversité et de la distribution phylogénétique des caractères physiologiques. En particulier, nous testerons la résilience de la calcification aux variations de pCO₂ chez plusieurs espèces disparates dans l'arbre des coccolithophores. La phylogenèse et l'origine géologique des groupes morphologiques tester pourrait contraindre les plasticités physiologiques observées aujourd'hui.
- annoter les gènes du cycle de vie et du cycle cellulaire dans le génome complet d'*Emiliana huxleyi*.

Dans ce même cadre, EPPO organisera le « *synthesis-meeting* » de l'annotation du génome nucléaire complet d'*Emiliana huxleyi*, à Roscoff, en collaboration avec le Prof. Betsy Read qui a demandé une bourse « fullbright » pour rejoindre notre équipe d'août 2008 à janvier

2009. Nous organiserons également le « *final-meeting* » du projet *BOOM* au début de l'été 2009, à la suite duquel nous souhaiterions publier un volume de synthèse sur l'écologie, l'évolution, et les applications technologiques des eucaryotes à micro-squelettes. *EPPO* poursuivra également ses activités au sein des projets *Paleo-CTD* (ANR) et probablement *EPOCA* (EU FP7), au sein duquel nous allons tenter de détecter les gènes sous pressions de sélection positive chez les espèces écologiquement importante de coccolithophore, et mesurer d'éventuelles réactions génomiques d'adaptation aux changements climatiques.

Thème 2 : Evolution et écologie du sexe et des cycles de vie chez les protistes marins.

C'est ici qu'*EPPO* mettra les bouchées doubles en 2008-2009, afin de profiter d'un concours de circonstances : la présence dans l'équipe d'excellents étudiants intéressés par ce sujet (M. Frada, P. von Dassow), la complétion du génome d'*E. huxleyi*, et le succès de notre projet « *Exploring the coccolithophore transcriptome* » soumis en juin 2007 au Genoscope. Le Genoscope a en effet reçu avec enthousiasme notre projet de séquencer en masse (240,000 EST + 454 sequencing) le transcriptome de la phase haploïde d'*E. huxleyi* ainsi que les transcriptomes haploïdes et diploïdes de trois autres espèces de coccolithophores. En plus de soutenir l'annotation du génome d'*E. huxleyi* et de lui procurer une dimension de génomique comparative au sein des coccolithophores, cet effort apportera un support génomique à nos expériences physiologiques sur la dynamique haplo-diploïde du cycle de vie eucaryote (voir bilan). Les transcriptomes des phases diploïde et haploïde seront comparés qualitativement et quantitativement, ainsi qu'aux taux d'évolution et de sélection des gènes les plus différenciellement exprimés entre les deux phases. Nous émettons l'hypothèse que la tension intra-spécifique créée par la balance entre stades de vies haploïde et diploïde génère une partie importante de la diversité génique dans les génomes eucaryotes.

Thème 3 : Processus de micro- et macro-évolution entre les virus marins géants et leurs hôtes coccolithophores.

Ce thème constitue la thèse d'A. Paragete et dépendra de ses efforts et choix dans l'orientation de ses recherches. Il semble cependant que nous soyons sur le point d'isoler le virus du coccolithophore *Gephyrocapsa oceanica*. Cette espèce est particulièrement intéressante car elle s'est séparée très récemment d'*E. huxleyi* (~270,000 années selon l'archive fossile) et l'étude du génome de son virus pourrait donner des indications précieuses sur les taux d'évolution génomiques de ces virus géants.

Thème 4 : Importance écologique et évolutive de l'endosymbiose eucaryote en milieu pélagique.

Ce thème sera surtout développé par notre nouvelle recrue CNRS Fabrice Not. Si la nature et l'impact écologique des symbioses sont largement étudiés en milieux terrestre et marin côtier, ceci est loin d'être le cas pour l'écosystème marin pélagique. Or ce milieu, souvent limité en nutriments, pourrait être une matrice très favorable pour la mise en symbiose de cellules hétéro- et autotrophes, un phénomène qui aurait d'ailleurs généré au cours de l'évolution l'immense diversité des organismes photosynthétiques marins par rapport au milieu terrestre. Il est intéressant de constater que les symbioses pélagiques ont souvent lieu entre des petites cellules photoautotrophes spécifiques et quelques groupes de « gros » protistes à squelette, pour la plupart appartenant à l'immense taxon des Rhizaria (foraminifères, acanthaires, radiolaires, etc.). Ces symbioses soutiennent donc la production des organismes à microsquelettes de calcaire, de silice, et de strontium sulfate dans de vastes domaines océaniques, ainsi que les flux de matière corrélatifs vers les couches plus profondes de l'océan. *EPPO*, et surtout F. Not avec l'aide de Y. Ishitani (expert en taxonomie des radiolaires), se propose d'utiliser une combinaison originale de techniques en biologie moléculaire, microscopie, et bioinformatique qui permettra, pour la première fois, une exploration systématique de la biodiversité eucaryotique impliquée dans les relations

endosymbiotiques entre protistes marins planctoniques. L'histoire évolutive (spécificité, co-évolution, origines) et le(s) mode(s) écologique(s) des acteurs clefs de la symbiose pélagique seront ensuite étudiés en détail. L'ensemble des données acquises dans cette première phase servira de base à des études à plus long terme des mécanismes moléculaires de mise en place de la symbiose, et des échanges d'information et de matériel génétiques entre partenaires.

Expression des Besoins

Accueil de nouveaux membres et besoins en personnel.

Au début de l'année 2008, *EPPO* se sera agrandie de quelques membres supplémentaires et aura atteint une taille optimale pour les 4 années de recherche à venir (maximum 10 membres). Nous avons tout d'abord soutenu la candidature de **Fabrice Not** sur un poste CNRS CR-2, et celui-ci prendra ses fonctions en décembre 2007. Il y aura d'autre part l'arrivée de **Yoshiyuki Ishitani**, un étudiant japonais qui a reçu une bourse de l'école doctorale franco-japonaise pour effectuer sa thèse en co-tutelle avec *EPPO*, et qui passera au moins une année en France, à la Station Biologique de Roscoff. Deux autres candidats devraient intégrer le groupe : le Dr. **Yurika Ujiie** et **El-Mahdi Bendif**. Nous avons fait deux demandes de bourses post-doctorales pour Y. Ujiie qui travaillera sur la partie génétique du programme ANR Paleo-CTD ; E-M Bendif bénéficierait d'une bourse de thèse provenant du EU-FP-7 « Large-scale Integrative project » *EPOCA* (European Project on Oceanic Acidification), auquel nous sommes associé. *EPOCA*, coordonné par le CNRS (J-P Gattuso, Villefranche/Mer) a passé le premier stade de sélection avec d'excellents résultats. Enfin, *EPPO* accueillera le Prof. **Paul Falkowski** pour une période de 6 mois en 2008 (poste rouge CNRS obtenu). Paul Falkowski est une des figures clef en sciences de la Terre/Environnement et en océanographie biologique aux Etats-Unis et dans le monde. Il a publié plus de 250 articles de rang A (dont de nombreux dans les revues *Nature* et *Science*, il est d'ailleurs éditeur pour ce dernier journal), il est auteur de plusieurs ouvrages dont le fameux « *Aquatic Photosynthesis* », et a reçu plusieurs distinctions importantes, dont une élection à la prestigieuse « *National Academy of Science* » cette année.

A la fin de la première phase de son contrat ATIP en octobre 2008, *EPPO* aura, il me semble, respecté son engagement de créer une nouvelle équipe et thématique de recherche au sein du CNRS. L'équipe a cependant un besoin pressant - et ce besoin se fera ressentir davantage encore en 2008 - d'un poste d'IE pour assurer de nombreuses activités de laboratoire liées à nos recherches (cultures cellulaires, physiologie des protistes, microscopie), efforts financés sur contrat depuis la création de l'équipe.

