



Sujet de stage de Master 2 - 2024/2025 - ToxEMAC, ABTE, Université de Caen Normandie

Sujet du stage

Biodiversité fongique et mycotoxines dans un environnement piscicole - caractérisation dans l'eau, la nourriture piscicole et sur des truites arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, en lien avec le microbiote bactérien.

Descriptif du projet

Nous développons, au sein de l'équipe, une nouvelle thématique de recherche sur les micromycètes dans les milieux piscicoles et l'effet de leurs mycotoxines sur la physiologie (notamment reproductrice) d'organismes aquatiques, en lien avec la santé animale et humaine. Ce sujet émergeant au sein de l'Unité de Recherche, s'inscrit dans la continuité des travaux menés actuellement au sein de l'équipe, sur la caractérisation fongique de l'air et de diverses matrices en élevages laitiers et équin [projets **BioestrogenAIR (doctorat N. Gounel)** et **EQUITEXPO.2 (doctorant en cours de recrutement)**] et sur l'effet des mycotoxines en tant que perturbateurs endocriniens de la reproduction chez les mammifères [1].

C'est également un sujet émergeant de façon plus générale, pour plusieurs raisons. D'une part, certains champignons sont connus pour produire naturellement des mycotoxines, métabolites secondaires toxiques à faible dose pour l'humain et l'animal. Parmi les mycotoxines, on compte les Aflatoxines produites par le genre *Aspergillus*, la Zéaralénone (ZEA) et le Déoxynivalénol (DON) produits par le genre *Fusarium* ou l'Ochratoxine A produite par les genres *Aspergillus* et *Penicillium* [2]. Certaines sont d'importants génotoxiques, agents cancérigènes et immunosuppresseurs pour l'humain. D'ailleurs, *Aspergillus fumigatus* fait partie des agents pathogènes fongiques prioritaires de l'OMS depuis 2022. D'autre part, très peu de données existent à l'heure actuelle sur la microfonge du compartiment aquatique, alors que les sources de contamination sont nombreuses (lessivage de sols de cultures, proximité d'élevages bovins et équin, rejets d'eaux usées et retraitées, nourriture pour poissons à base de céréales ...) [3]. Le lien avec le microbiote bactérien aquatique est également peu connu. Pourtant, certains micromycètes et bactéries peuvent aussi être retrouvés dans les organismes aquatiques comme les poissons téléostéens. C'est par exemple le cas de la bactérie *Aeromonas salmonicida* identifiée comme un pathogène induisant des furunculoses, une maladie grave, contagieuse et économiquement importante, notamment chez les poissons d'eau douce [4]. C'est aussi le cas du genre *Saprolegnia*, qui provoque la Saprolégniose, une infection fongique cutanée. D'autres micromycètes, en produisant des mycotoxines, entraînent aussi des pathologies, comme des mycotoxicoses (associées notamment à une diminution du poids et des taux plus élevés de maladies et de mortalité) et des perturbations de la physiologie reproductrice (puberté précoce des femelles, intersex ...) [5]. Certaines mycotoxines peuvent même s'accumuler dans la musculature des poissons, qui, alors consommés, sont une voie d'entrée dans la chaîne alimentaire humaine, menaçant ainsi la sécurité alimentaire et la santé publique.

Dans ce contexte, nous proposons, dans le cadre d'un stage de Master 2, en prérequis à l'étude des effets de la microfonge aquatique et des mycotoxines sur la reproduction des truites arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*, de caractériser la biodiversité fongique présente en milieu piscicole, à la fois

dans la nourriture, dans l'eau et sur les truites, en lien avec le microbiote bactérien. Ce stage de Master 2 s'appuiera sur le travail réalisé lors d'un stage de Master 1 (printemps 2024), qui a consisté à valider des approches d'enrichissement des échantillons par filtrations, de cultures fongiques et d'extraction d'ADN génomique, pour caractériser le microbiote fongique dans des eaux de rivière et dans des granulés pour poissons d'élevage.

Ainsi, pour répondre à notre question scientifique, des prélèvements d'eau (et de sédiment), de granulés et d'échantillons de tissus de poissons (peau, tube digestif et branchies pour le stage – foie, muscles et gonades pour de futures analyses hors stage) seront réalisés dans une pisciculture de truites. Pour chaque échantillon, après enrichissement par filtration, la caractérisation fongique sera faite sur des milieux de cultures MEA (*Malt Extract Agar* + antibiotiques) et, après extraction d'ADNg, par metabarcoding, en lien avec le microbiote bactérien. L'analyse *in silico* des résultats de metabarcoding couplés à ceux des cultures permettront d'identifier et quantifier la biodiversité fongique et bactérienne. Cette cartographie pourra être couplée, dans le futur (hors stage de M2), à des analyses biochimiques (chromatographie liquide et spectrométrie de masse haute résolution LC-HRMS) afin de détecter et quantifier les mycotoxines associées, comme par exemple le DON et la ZEA connus pour être des perturbateurs endocriniens de la reproduction chez le rat [1]. De telles cartographies sont indispensables pour mener à bien de futurs travaux sur l'écophysiologie des truites en pisciculture, dans un contexte de santé animale et humaine.

Approches techniques et diagramme de Gantt

Techniques : Prélèvements sur le terrain, préparation des échantillons (concentrations et filtrations), cultures et identifications fongiques, extractions d'ADN génomique, metabarcoding (réalisé par un prestataire des marchés de l'université de Caen Normandie), analyses *in silico* de la diversité fongique et bactérienne.

Gantt

2025	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin
Prélèvements	X					
Filtrations	X					
Cultures fongiques	X	X	X			
Identifications fongiques en cultures	X	X	X			
Extraction d'ADNg		X	X			
Metabarcoding			X	X		
Analyses <i>in silico</i> fongique et bactérienne				X	X	X
Traitement des résultats et rédaction du mémoire				X	X	X

Bibliographie

- [1] Drouault et al., 2023. doi: 10.1016/j.etap.2023.104203
- [2] Bezerra da Rocha et al., 2014. doi : 10.1016/j.foodcont.2013.08.021
- [3] Fröhlich-Nowoisky et al., 2016. doi: 10.1016/j.atmosres.2016.07.018
- [4] Park et al., 2020. doi: 10.4014/jmb.2005.05040
- [5] Marijani et al., 2019. doi : 10.1155/2019/6743065

Lieu du stage, encadrement et vie de laboratoire

Le (la) candidat.e effectuera son stage au sein de **l'Unité de Recherche ABTE "Aliments Bioprocédés, Toxicologie, Environnements"**, une UR née en janvier 2012 sous tutelle de l'université de Caen Normandie et de l'université de Rouen Normandie. Cette UR comporte trois équipes, MALIM, EcoTea et ToxEMAC.

Les expériences seront principalement réalisées au sein de **l'équipe ToxEMAC**, sur le Campus 1 de l'université de Caen Normandie, situé près du centre-ville de Caen, ville étudiante et historique de plus de 108 000 habitants. Une sortie sur le terrain sera également organisée pour les prélèvements. L'équipe ToxEMAC est composée de 2 Professeurs (dont 1 promue en 2024), 9 Enseignants-Chercheurs.ses (dont 2 recruté.es en septembre 2024), 2 Techniciens, 1 ATER et 2 doctorants. Nous accueillons aussi de nombreux étudiants de L3, M1 et M2.

L'encadrement sera réalisé par Anne-Sophie Martinez et Christophe Lelong (équipe ToxEMAC) et plus ponctuellement par Marion Dalmasso (équipe MALIM). Le (la) candidat.e bénéficiera ainsi d'expertises complémentaires, (1) en écophysiologie aquatique et mycologie (*Christophe Lelong, Anne-Sophie Martinez, David Garon - ToxEMAC*) et (2) sur les microbiotes bactériens de matrices variées et sur l'analyse de données de métabarcoding associées (*Marion Dalmasso, Nathalie Desmasures - MALIM*).

Candidature

Le ou la candidat.e doit posséder des connaissances en microbiologie (et éventuellement en mycologie) et en biologie moléculaire. Une connaissance des outils de bio-informatique et/ou en biostatistiques sera appréciée. Une connaissance des organismes et milieux aquatiques n'est pas demandée. Le stage est prévu pour une durée de 6 mois à partir de janvier 2025, date et durées qui peuvent être ajustables selon les masters (merci de préciser la date de début de stage et la durée).

Pour candidater, veuillez envoyer un CV, vos notes de Licence 3 et une lettre de motivation à Anne-Sophie Martinez (anne-sophie.martinez@unicaen.fr) et Christophe Lelong (christophe.lelong@unicaen.fr).

Si vous souhaitez en savoir un peu plus sur le sujet, n'hésitez pas à nous contacter aux adresses ci-dessus.

Le (la) candidat.e recevra une gratification pour la durée du stage, selon le barème national (actuellement à 4,35 €/h).