

AVIS DE SOUTENANCE DE THÈSE

Madame Laurie LABEYRIE

Candidate au Doctorat de Chimie analytique,
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Soutiendra publiquement sa thèse intitulée :

Techniques de spectrométrie de masse pour l'imagerie du sélénium dans des coupes fines de poisson : de la localisation quantitative à l'identification des espèces séléniées

Dirigée par Madame SANDRA MOUNICOU

le 21 décembre 2023 à 14h30

Lieu : IPREM Technopôle Helioparc, 2 Avenue du Président Pierre Angot, 64053 Pau Cedex 9

Salle : Amphithéâtre IPREM

Composition du jury :

Mme Sandra MOUNICOU, Directeur de recherche CNRS	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Directrice de thèse
Mme Beatriz FERNANDEZ-GARCIA, Associate Professor	Université d'Oviedo	Rapporteuse
M. Maikel ROSABAL RODRIGUEZ, Professeur	Université du Québec	Rapporteur
M. Brice BOUYSSIERE, Professeur des universités	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Examineur
Mme Stéphanie FONTAGNÉ-DICHARRY, Chargé de recherche INRAE	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Examinatrice
M. Carlos AFONSO, Professeur des universités	Université de Rouen	Examineur

Résumé :

La localisation et la connaissance de la concentration d'éléments chimiques et leurs espèces dans les différents organes d'échantillons biologiques permettent d'apporter des informations sur leur métabolisme et leurs effets biologiques. L'ablation laser - ICP MS est une technique clé pour l'imagerie quantitative de métaux à l'échelle du micromètre grâce à sa résolution spatiale (μm) et sa sensibilité de détection (ng.g^{-1}). La quantification en LA-ICP MS des éléments dans les échantillons biologiques est complexe et nécessite le développement de méthodologies fiables. Le sélénium (Se), oligoélément essentiel, est utilisé en supplément alimentaire pour l'aquaculture plus durable en remplacement des farines de poissons et afin de maintenir le système antioxydant des poissons d'élevage. Cependant, le métabolisme du Se n'est pas entièrement élucidé. L'objectif principal de cette thèse était donc de développer des méthodes de quantification du Se par LA-ICP MS pour sa localisation quantitative dans les organes d'alevins de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) de 3 semaines et d'explorer l'identification de ses formes chimiques directement sur tissus. La première partie de la thèse présente la mise en place de deux méthodes de quantification du Se par LA-ICP MS, mais aussi du Hg, un contaminant naturellement retrouvé dans les dérivés de farines de poissons, et d'éléments endogènes (cuivre, zinc, molybdène) dans les alevins. La première méthode est basée sur la production de films polymériques dopés en étalons métalliques pour la calibration et/ou l'étalonnage interne. La deuxième consiste au dopage en métaux de deux matrices biologiques disponibles dans le commerce (muscle de truite et foie de veau) mimant celles des poissons. Des droites de calibration linéaires ont pu être obtenues avec les deux méthodes pour le Cu, Zn, Se et Mo, mais seulement avec les étalons de muscle et de foie pour le Hg. La deuxième partie de la thèse est consacrée à l'application des deux méthodologies à la quantification du Se, Hg, Cu, Zn et Mo dans des coupes d'alevins afin d'étudier les différences d'assimilation dans leurs organes entre différentes conditions de supplémentation en Se et Hg organiques, directe ou via leurs géniteurs, avec des régimes à base de plantes ou de sous-produits de thon. Les images quantitatives obtenues par LA-ICP MS ont permis de montrer qu'une supplémentation directe des alevins en Se et/ou en Hg élève leur concentration dans tous les tissus des alevins, les niveaux les plus élevés sont retrouvés dans le foie, le rein, le muscle et le système digestif. La supplémentation parentale en sélénométhionine a dans tous les cas un impact sur les niveaux de Se des alevins, plus que lorsque le Se provient de sous-produits de thon. Le Hg est faiblement transféré des géniteurs à leurs alevins. Une diminution des niveaux de Hg dans les reins des alevins supplémentés en Se et Hg semble avoir lieu, et pourrait être liée à la présence du Se. La dernière partie de cette thèse porte sur des essais pour identifier des protéines sélénées dans les alevins de truites. L'objectif final étant de mettre en place un protocole de préparation d'échantillon pour l'identification directe des espèces sélénées sur les coupes d'alevin. Tout d'abord, les extraits protéiques des alevins ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique couplée à l'ICP MS. Trois fractions correspondant à des composés sélénés de masses moléculaires différentes ont pu être détectées, de même que trois fractions pour le Hg, dont deux d'entre elles montrent des colocalisations du Se et Hg associés aux protéines. Les protéines ont également été séparées sur gels d'électrophorèse avant marquage avec des anticorps pour tester leur spécificité vis à vis des sélénoprotéines. Les gels analysés par LA-ICP MS ont révélé la présence de Se à faible intensité sur des bandes protéiques à des masses moléculaires d'environ 75 kDa et 40 kDa.