

Salinity-related oxidative stress in crabs: exploring the signaling role of free radicals in salinity adaptations.

M.Sc. research proposal / Stage de recherche M2

Université de Montpellier 2
UMR5119 ECOSYM
Team: Adaptations Ecophysiologiques et Ontogénèse
Place Eugène Bataillon
34095 Montpellier, France

Organisms inhabiting the **intertidal ecosystem** exist in the margins of marine and terrestrial realms, and thus, must cope with **dramatic physical and chemical daily changes** in their environment. Understanding the **physiological and evolutionary adaptations** that allow these organisms to withstand such conditions will allow us to **predict** how further changes, in the context of **climate change**, will affect them. Crabs in particular are interesting models since they may live from coastal areas and estuaries (being influenced by tidally fluctuating salinities) to areas with constant conditions of low osmotic pressure.

A **common consequence** of most abiotic (and biotic) **stresses** is that they result, at some stage of stress exposure, in an increased **production of free radicals (FR)**, reactive-oxygen species (ROS) and reactive-nitrogen species (RNS) that occur in aerobically functioning cells as by-products of cellular respiration and of several cellular defense and detoxification mechanisms [1]. **Accumulation** of FR that cannot be detoxified by the cellular antioxidant system leads to “**oxidative stress**” (OS), which is directly linked with organismal fitness and cellular/organismal senescence. Since their discovery in the 1950s, ROS have been described as **extremely harmful** compounds which, among other things, are responsible for cellular damage, mutagenesis and ageing. But since the beginning of the 21st century, many works have demonstrated that FRs can also be **involved** in important **physiological functions**, such as muscle relaxation, immune reactions, signal transduction, apoptotic cell death, homeostasis and **induction of adaptive mechanisms** [2]. This has been well studied in plants: for example, it has been demonstrated that nitric oxide (and RNS) and H₂O₂ (a ROS) may act as signal in inducing salt tolerance [3-5].

Therefore, our **objectives are DUAL**: (i) we aim to analyze and compare how changes in salinity affect two species of crabs (namely the green crab *Carcinus aestuarii* and the black crab *Pachygrapsus marmoratus*) in terms of **ROS and RNS production, antioxidant levels and oxidative damage** and (ii) explore if, like it has been reported in plants, certain ROS and RNS could be involved in triggering salt tolerance in crabs.

We search for a highly motivated student, interested in acquiring an ecophysiological background (directed towards the assessment of oxidative stress) to conduct these studies as part of a Msc. Thesis. Techniques to acquire:

- Crab culturing and general aquaria maintenance
- Determination of enzymatic antioxidant defense in tissues (namely catalase and superoxide dismutase activity).
- Determination of oxidative damage (quantification of lipid peroxidation levels and caspase 3/7 activity)
- Determination of the levels of expression of target genes through RT-qPCR.

The use of these or other techniques will vary depending on the student's capacity to master each of the methods to be used in the study.

Candidates may contact Dr. Georgina A. RIVERA (Georgina.Rivera-Ingraham@univ-montp2.fr) or Prof. Jehan-Hervé LIGNOT (Jehan-Hervé.Lignot@univ-montp2.fr)

Les organismes de l'**écosystème intertidal** vivent à la limite entre les domaines marins et terrestres et doivent ainsi faire face quotidiennement à d'**importants changements environnementaux** (notamment physiques et chimiques). Comprendre les **adaptations physiologiques et évolutives** qui permettent à ces organismes de résister à de telles conditions doit nous permettre de **prédire** la façon dont d'autres changements, dans le contexte du **changement climatique**, les affectera. Les crabes en particulier sont des modèles intéressants car ils peuvent vivre dans les zones côtières et les estuaires (ces milieux étant influencés par des fluctuations de salinité dues aux marées) et dans des zones où les conditions sont constantes avec ainsi une faible pression osmotique.

Une **conséquence fréquente** de la plupart des expositions au **stress** abiotique (et biotique), est la **production** accrue de **radicaux libres (FR)**, les espèces réactives à l'oxygène (ROS) et les espèces réactives à l'azote (RNS), qui interviennent dans le fonctionnement des cellules en aérobose comme sous-produits de la respiration cellulaire et de plusieurs mécanismes de défense et de détoxification cellulaire [1]. **L'accumulation de FR** qui ne peuvent être détoxifiés par le système antioxydant cellulaire conduit à un "**stress oxydatif**" (OS), qui est directement lié à la 'fitness' et la sénescence cellulaire de l'organisme. Depuis leur découverte dans les années 1950, les ROS ont été décrits comme des composés **extrêmement nocifs** qui, entre autre, sont responsables de dommages cellulaires, de mutagenèse et de vieillissement. Cette dernière décennie, de nombreux travaux ont démontré que les FR peuvent également être **impliqués** dans des **fonctions physiologiques** importantes telles que la relaxation musculaire, les réactions immunitaires, la transduction du signal, la mort cellulaire par apoptose, l'homéostasie et l'**induction de mécanismes d'adaptation** [2]. Cela a été bien étudié par exemple chez les plantes, où il a été démontré que l'oxyde nitrique (et les RNS) et H₂O₂ (un ROS) peuvent agir en tant que signaux pour induire la tolérance au sel [3-5].

Par conséquent, **nos objectifs sont doubles** : (i) nous chercherons à analyser et comparer la façon dont les changements de salinité affectent deux espèces de crabes (le crabe vert *Carcinus aestuarii* et le crabe marbré *Pachygrapsus marmoratus*) en termes de **ROS et RNS production**, et ainsi déterminer **les niveaux d'antioxydants et les dommages oxydatifs** et (ii) étudier si, comme il a été rapporté dans les plantes, certains ROS et RNS pourraient être impliqués dans le déclenchement de la tolérance au sel chez les crabes.

Nous recherchons un étudiant très motivé, intéressé par l'acquisition d'une connaissance en écophysiologie (dirigée vers l'évaluation du stress oxydatif) pour réaliser ces études. Les techniques nécessaires à acquérir sont :

- Elevage des crabes et entretien général des aquariums
- Détermination des défenses antioxydant enzymatique dans les tissus (catalase et activité de la superoxyde dismutase).
- Détermination des dommages oxydatifs (quantification des niveaux de peroxydation lipidique et de l'activité de la caspase 3/7)
- Détermination des niveaux d'expression de gènes cibles par le biais de la RT-PCR quantitative.

L'utilisation de ces techniques ou d'autres sera modulée en fonction de la capacité de l'étudiant à maîtriser chacune des méthodes nécessaires pour l'étude. Les candidats intéressés peuvent contacter le Dr. Georgina A. RIVERA (Georgina.Rivera-Ingraham@univ-montp2.fr) ou le Prof. Jehan-Hervé LIGNOT (Jehan-Hervé.Lignot@univ-montp2.fr)

References

- Abele D, Vázquez-Media JP, Zenteno-Savín T and (Eds.) (2012) Oxidative stress in aquatic ecosystems. UK: Wiley-Blackwell. 524 p.
- Turrens JF (2003) Mitochondrial formation of reactive oxygen species. The Journal of Physiology 552: 335-344.
- Zhang Y, Wang L, Liu Y, Zhang Q, Wei Q, et al. (2006) Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast. Planta 224: 545-555.
- Slesak I, Libik M, Karpinska B, Karpinski S and Miszalski Z (2007) The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. Acta Biochimica Polonica 54: 39-50.
- Pletjushkina OY, Fetisova EK, Lyamzaev KG, Ivanova OY, Domnina LV, et al. (2006) Hydrogen peroxide produced inside mitochondria takes part in cell-to-cell transmission of apoptotic signal. Biochemistry (Moscow) 71: 60-67.