

APPELS À SUJETS 2020 CONCOURS DE L'ÉCOLE DOCTORALE 227 MNHN-SU

Numéro du sujet

(1, 2, 3, ...)

Sujet de la thèse

« Meta-Lic »

Méta-microbiotes des lichens de l'estran rocheux atlantique: réseaux de co-occurrences bactéries-champignons et métabolites impliqués.

UMR

FRE 2030 BOREA

Equipe

Source et transfert de la Matière organique en milieu AQUatique - SOMAQUA

Directeurs de thèse HDR

Directeur : Cédric Hubas (HDR obtenue le 07/12/2018)

Co-directeur : Tony Robinet (même équipe)

Mails

cedric.hubas@mnhn.fr , robinet@mnhn.fr

Rôles dans l'encadrement de la thèse

CH : métabolomique, data mining ; TR : metabarcoding et réseaux.

Les cultures et la caractérisation des métabolites secondaires par spectroscopies (RMN, SM) seront effectuées en collaboration avec l'équipe de Soizic Prado (Pr. MNHN, UMR MCAM).

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants

(5 doctorants maximum)

Articles de journaux avec anciens doctorants (A Prins [2017-2020], E Riera [2017-2020] & C Passarelli [2010-2013])

Prins A, Deleris P, Hubas C, Jesus B (2020) Effect of light intensity and light quality on diatom behavioural and physiological photoprotection. *Frontiers marine science* (accepted with minor revision)

Riera E, Lamy D, Goulard C, Francour P, Hubas C (2018) Biofilm monitoring as a tool to assess the efficiency of artificial reefs as substrates: Toward 3D printed reefs, *Ecological Engineering*, 120:230-237

Passarelli C, Meziane T, Thiney N, Bouf D, Jesus B, Ruivo M, Jeanthon C, Hubas C (2015) Seasonal variations of the composition of microbial biofilms in sandy tidal flats: focus of fatty acids, pigments and exopolymers. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 135: 29-37

Passarelli C, Olivier F, Paterson DM, et al. (2014) Organisms as cooperative ecosystem engineers in intertidal flats. *Journal of Sea Research* 92:92-101

Passarelli C, Olivier F, Paterson DM, Hubas C (2012) Impacts of biogenic structures on benthic assemblages: microbes, meiofauna, macrofauna and related ecosystem functions. *Marine Ecology Progress Series* 465:85-97.

Passarelli C, Hubas C, A Segui N, et al. (2012) Surface adhesion of microphytobenthic biofilms is enhanced under *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) trophic pressure. *Journal of Experimental Marine Biologie and Ecology* 438:52-60

Hubas C, Jesus B, Passarelli C, Jeanthon C (2011) Tools providing new insight into coastal anoxygenic purple bacterial mats: review and perspectives. *Research in Microbiology* 162: 858-868

Chapitres d'ouvrages avec anciens doctorants (C Passarelli)

Hubas C, Passarelli C, Paterson DM (2018) Microphytobenthic biofilms: composition and interactions. In: Peter G Beninger (Ed.) *Mudflat Ecology*, Springer International Publishing, Cham, p 63-90

Passarelli C, Hubas C, Paterson DM (2018) Mudflat ecosystem engineers and services. In : Peter G Beninger (Ed.) *Mudflat Ecology*, Springer International Publishing, Cham, p 243-269

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées

(5000 caractères)

Résumé du projet

Un microbiote est une communauté commensale d'organismes unicellulaires vivant dans et à la surface de tous les organismes pluricellulaires connus (organismes-hôtes). Microbiote et organisme-hôte forment l'holobionte. Depuis quelques années, les recherches portant sur les microbiotes animaux et végétaux sont en plein essor, même si la compréhension de leur fonctionnement émerge à peine. En particulier, les interactions bactéries-champignons (IBC) sont connues pour être déterminantes dans la structure des microbiotes et la survie de leurs hôtes, mais ne sont pas souvent regardées.

Les micro-organismes qui forment le microbiote sont essentiellement des bactéries, des archées et des champignons (fungi au sens large : surtout ascomycètes, basidiomycètes et oomycètes). On peut y ajouter les virus. Seuls quelques taxons du microbiote joueraient un rôle vraiment prépondérant d'un point de vue fonctionnel, leur présence ou leur absence engageant directement la structure et l'équilibre du consortium microbien : ce sont des hubs microbiens, leur présence étant directement corrélée à celle de la majorité des autres taxons du consortium. Parmi hubs, certains sont juste contingents de la diversité alentour (et potentiellement interchangeables): ce sont juste des *hubs*. D'autres, au contraire, sont uniques d'un point de vue fonctionnel, ils sont alors appelés *keystone*, les seuls à pouvoir assurer une fonction précise et vitale pour le

consortium. Leur absence engendre une dysbiose, c'est-à-dire d'un déséquilibre majeur du microbiote, pathologique pour l'hôte.

Les travaux portant sur les réseaux microbiotiques suggèrent que les IBC joueraient un rôle fonctionnel prépondérant pour le microbiote, dans un sol ou dans un organisme-hôte, pour le phénotype de l'hôte, sa croissance et sa résistance au stress. Les IBC sont médiées par des métabolites secondaires, qui font partie du métabolome de l'holobionte. Ils structurent le microbiote par leurs activités biologiques (anti-bactériennes, anti-fongiques, protection, communication). La compréhension des processus de médiation chimique des IBC est un enjeu central dans les champs de recherche bio-médicaux, agronomiques, d'écologie chimique et de biodiversité fonctionnelle.

Les lichens sont intéressants pour étudier ces processus car ils constituent une symbiose ancienne. Les lichens marins de la côte rocheuse atlantique européenne occupent un habitat marqué par la salinité et le rythme des marées, étagés en ceintures colorées. La composition de leur microbiote (micro-algues, bactéries, archées, micro-champignons) et de leur métabolome est très peu connue. La nature et le rôle des interactions à l'oeuvre restent à explorer.

L'objectif de la thèse est de décrire finement la composition des microbiotes et des métabolomes des principaux lichens des côtes rocheuses atlantiques, en caractérisant leur noyau microbiotique (core) et les réseaux de co-occurrence des taxons microbiens et des métabolites associés, ceci entre lichens d'une même espèce et entre ceux d'espèces différentes dans un même habitat. L'analyse des réseaux microbiens aura pour but d'identifier les taxons centraux (hubs et keystones) et ceux plus opportunistes, et de caractériser leurs interactions potentielles. Les métabolomes associés à chaque microbiote seront établis et comparés afin de caractériser les médiateurs chimiques régissant les IBC. En parallèle, la reconstitution *in vitro* de communautés du microbiote par mise en culture des microorganismes impliqués permettra d'isoler ces métabolites afin de mieux les identifier et d'étudier leurs moyens d'action.

Approches méthodologique et technique envisagées

1/ **Métabarcoding** : Caractériser les réseaux de co-occurrence des taxons microbiens, les taxons hubs/keystones; PCR sur l'opéron ribosomal de séquences courtes compatibles Illumina (16S V3-V4 pour bactérien-archéen, ITS2 pour fungi) et de séquences longues compatibles Nanopore MinIon (16S complet pour bactérien-archéen, 18S-ITS-28S pour fungi); pipeline qiime2 et analyse des réseaux de co-occurrences (corrélations, SparCC, SPIEC-EASI).

2/ **Métabolomique** : Caractériser les métabolomes des principales espèces des ceintures de l'estran rocheux par des approches ciblées et non ciblées de spectrométrie de masse (LC-MS, LC-MS/MS haute résolution ESI-QTOF et GC-MS-FID simple quadrupôle) ; corrélations entre la présence ou l'absence de certains OTUs du microbiote et les profils métaboliques (notamment métabolites spécialisés/Meta-métabolomique) ; annotation des métabolomes au moyen des données de MS et MS-MS grâce aux bases de données de produits naturels disponibles (Antibase, Dictionary of Natural Products, Molecular Networking).

3/ **Reconstitution *in vitro*** d'un modèle de communautés du microbiote: par mise en culture des microorganismes les plus impliqués afin d'isoler les métabolites pour mieux les identifier par RMN et SM et étudier leurs modes d'action et rôles écologiques au sein des interactions.

Faisabilité en trois ans avec échéancier

(850 caractères)

| années → | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Prélèvements in-situ | | | | | | | | | | | | |
| Métabarcoding : séquençages | | | | | | | | | | | | |
| Réseaux d'OTUs | | | | | | | | | | | | |
| Métabolomique: analyses | | | | | | | | | | | | |
| Réseaux de métabolites | | | | | | | | | | | | |
| Co-occurrences OTUs ↔ métab. sec. | | | | | | | | | | | | |
| Cultures de microbiotes in-vitro | | | | | | | | | | | | |
| Isolement des métabolites issus des cultures / réseaux métabo. | | | | | | | | | | | | |
| Rédaction d'articles | | | | | | | | | | | | |
| Rédaction de la thèse | | | | | | | | | | | | |

Stratégie de publication

(850 caractères)

Au moins 2 publications scientifiques sont attendues sur le sujet. Titres potentiels des futures publications :

- *Microbial networks within a lichen community : importance of bacterial-fungi interactions.*
- *Metabolomics and taxa networks in lichens*

Profil du candidat recherché

Formation de biologiste moléculaire / chimie du vivant, avec des compétences, sinon une spécialisation Master, en bio-informatique.

Financement hors salaire (missions, séminaires, fonctionnement, ...)

Le financement des analyses s'élève à environ 10k€. La participation à un colloque international à 2k€. Un budget de 12k€ sera donc recherché en répondant à des appels à projets: ATM (MNHN), Ec2co (CNRS), expertises lichens et/ou métabarcoding fongique. L'unité BOREA pourra aussi être sollicitée via des appels d'offres internes dédiés (AAP axe transversaux, ...). TR interagit avec un réseau européen de lichénologues (Pays de Galles, Espagne, Allemagne, Italie, Autriche, Pays-bas), susceptible de répondre à des AAP européens.