

Intitulé de stage

Évaluation de l'impact de modes d'usage contrastés sur les capacités fonctionnelles des microorganismes des sols par une approche séquençage massif sans *a priori*

Sujet de stage

Contexte et projet de rattachement

Les sols délivrent de nombreux services essentiels pour les sociétés humaines, tels que la production primaire, ou la régulation des grands cycles biogéochimiques (Maron *et al.* 2011). Parmi ces fonctions, le turnover de la matière organique est d'une importance majeure dans le fonctionnement des agro-écosystèmes (Trivedi *et al.* 2013; Delgado-Baquerizo *et al.* 2016). Il détermine ainsi la balance entre la minéralisation et la séquestration du carbone, ainsi que l'accès aux nutriments dans les sols. Cette balance est déterminée par l'activité des communautés microbiennes des sols qui catalysent les transformations de la matière organique dans le sol. La modification des communautés microbiennes (abondance/diversité) engendrée par les modifications de leur environnement notamment par les pratiques agricoles peuvent en conséquence influencer sur le turnover de la matière organique et donc sur la fertilité du sol. L'agroécologie a émergé dans ce contexte, avec pour but de définir de nouvelles pratiques pour promouvoir les processus et fonctions écosystémiques et donc la durabilité des écosystèmes.

Le projet FONCTIOMIC (*Linking dynamics of microbial metagenomes with soil organic matter decomposition in agricultural soil*) sur lequel s'appuie le sujet de stage vise à caractériser comment les modifications des communautés microbiennes (abondance et diversité) induites par des pratiques agricoles contrastées (prairie vs culture) peuvent expliquer les changements de fonctionnement en termes de *turnover* de la matière organique dans le sol (Marschner *et al.* 2011; Baumann *et al.* 2012; Pascault *et al.* 2013). Ce projet s'appuie à la fois sur des approches en conditions contrôlées (microcosmes), et *in situ* (site expérimental) dont les résultats ont pour but d'améliorer notre connaissance des processus microbiens impliqués dans la dégradation des matières organiques (Tardy *et al.* 2015). Deux suivis temporels ont été réalisés (en conditions contrôlées et *in situ*), pour suivre l'évolution des communautés microbiennes en réponse à un amendement avec de la matière organique (blé marqué au ¹³C). Le design expérimental regroupe 48 échantillons pour les conditions *in situ* et 72 pour les conditions contrôlées.

Les expérimentations et échantillonnages, ainsi que les premières analyses (biomasse moléculaire microbienne, amplification PCR, séquençage dirigée et sans *a priori*, mesures de gaz) ont déjà été effectuées, les données sont donc disponibles pour analyse. Dans ce projet, l'étudiant(e) devra analyser des données de séquençage massif sans *a priori* de sols provenant des deux expérimentations différentes décrites précédemment (microcosmes et *in situ*). L'obtention des données exploitables (depuis Aout 2019) a été fait en collaboration avec la plateforme GeT de Toulouse.

Objectifs

Les objectifs du stage proposé sont donc d'exploiter les jeux de données disponibles afin :

- De déterminer quels sont les variations taxonomiques et fonctionnelles des communautés microbiennes des sols analysés impliqués dans le turnover de la matière organique, en lien avec deux modes d'usage contrastés ;
- De déterminer quels sont les variations temporelles des communautés microbiennes des sols analysés impliqués dans le turnover de la matière organique (copiotrophie, oligotrophie) ;

- D'identifier de potentiels gènes et/ou voies métaboliques clés en lien avec le turnover de la matière organique ;
- D'évaluer l'impact des pratiques agricoles sur les communautés microbiennes du sol (diversité et fonctionnalité) ;

Données et techniques utilisées

L'analyse des données de séquençage obtenues récemment (plus de 9 milliards de lectures pairées en 2x150 bases au total) sera le cœur du stage proposé. Cette analyse s'appuiera sur l'expertise du personnel de la plateforme Migale (UR 1404 MalAGE). En effet, une première analyse de ces jeux de données sera effectuée par des personnes de la plateforme Migale, pour assembler et annoter ces jeux des données. Par exemple, une première analyse s'appuiera sur des outils comme SIMKA (https://hal.inria.fr/IRISA_SET/hal-01180603v1) pour comparer la composition en k-mers des échantillons. D'autres étapes bioinformatiques (construction de catalogues de génomes de références, pour faciliter l'assemblage et l'annotation, clustering de données, annotation fonctionnelle, visualisation, etc.) seront réalisées pour faciliter l'analyse scientifique des données et des résultats (Li *et al.* 2014; Sunagawa *et al.* 2015).

L'étudiant aura donc en charge la mise en place des analyses, et leur réalisation, en collaboration avec la plateforme Migale.

Il aura également en charge l'exploitation et la mise en forme des résultats. Ainsi, il assurera l'analyse statistique des résultats, la construction de réseaux de gènes par analyses statistiques, les calculs d'indices ainsi que de la composition des communautés. Ce travail sera fait en utilisant le logiciel libre R (packages « phyloseq », « vegan », « ggplot2 »), mais aussi d'autres outils disponibles.

Compétences attendues

Le stage s'adresse à des étudiants avec un parcours de bioinformatique et/ou de bioanalyse, mais avec quelques connaissances en microbiologie et écologie et qui sont intéressés par les approches de diversité génétique et les analyses biostatistiques de jeux de données NGS (Next Generation Sequencing).

De solides compétences en **bioinformatique** et **bioanalyse** sont donc indispensables. Plus précisément :

- connaissance en **diversité, génétique et écologie** des microorganismes des sols ;
- bonne maîtrise des **outils d'analyse** (logiciel R, autres) ;
- connaissance des analyses statistiques en écologie microbiennes (indice de diversité, statistiques exploratoires, etc.) ;
- compétence en **analyse de données de métagénomique** sans *a priori* nécessaire ;
- maîtrise de la langue anglaise (lecture et écriture).

Moyens mis à disposition

L'étudiant(e) pourra s'appuyer sur les moyens logistiques et humains mis à disposition dans le cadre du projet FONCTIOMIC. Notamment, la collaboration avec la plateforme Migale (UR 1404 MalAGE), et plus particulièrement de deux ingénieurs ayant déjà traités ce type de jeux de données sera utile.

L'étudiant(e) aura accès à des systèmes de calcul locaux (serveur de calcul de l'équipe BIOCUM, UMR Agroécologie), mais aussi de ceux de la plateforme Migale, adaptés à l'analyse de ces jeux de données volumineux, et d'autres calculateurs si besoin.

Encadrant(s) et contact(s)

Encadrant principal (signataire de la convention) : Sébastien TERRAT (UMR 1347 Agroécologie, équipe BIOCOM)

Co-encadrant : Pierre-Alain MARON (UMR 1347 Agroécologie, équipe BIOCOM)

Les demandes d'informations et dossiers de candidature sont à envoyer avant le 8 novembre au plus tard (le stage étant prévu de Janvier à Juin), à :

Sébastien TERRAT : sebastien.terrat@inra.fr

Pierre-Alain MARON : pierre-alain.maron@inra.fr

Bibliographie

- Baumann, K., Dignac, M.F., Rumpel, C., Bardoux, G., Sarr, A., Steffens, M., *et al.* (2012). Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry*, 114, 1–12.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F.T., Reich, P.B., Trivedi, P., Osanai, Y., Liu, Y.R., *et al.* (2016). Carbon content and climate variability drive global soil bacterial diversity patterns. *Ecol. Monogr.*, 86, 373–380.
- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., *et al.* (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.*, 32, 834–841.
- Maron, P.-A., Mougél, C. & Ranjard, L. (2011). Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *C. R. Biol.*, 334, 403–411.
- Marschner, P., Umar, S. & Baumann, K. (2011). The microbial community composition changes rapidly in the early stages of decomposition of wheat residue. *Soil Biol. Biochem.*, 43, 445–451.
- Pascual, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., *et al.* (2013). Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems*, 16, 1–13.
- Sunagawa, S., Coelho, L.P., Chaffron, S., Kultima, J.R., Labadie, K., Salazar, G., *et al.* (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science (80-.)*, 348, 1261359.
- Tardy, V., Spor, A., Mathieu, O., Lévêque, J., Terrat, S., Plassart, P., *et al.* (2015). Shifts in microbial diversity through land use intensity as drivers of carbon mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 90, 204–213.
- Trivedi, P., Anderson, I.C. & Singh, B.K. (2013). Microbial modulators of soil carbon storage: Integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends Microbiol.*, 21, 641–651.