

# Caractérisation de l'activité de fixation d'azote chez des bactéries diazotrophes marines interagissant avec des micro-algues photosynthétiques

La fixation biologique de diazote dissous ( $N_2$ ) ou diazotrophie supporte une portion significative de la production primaire océanique et permet de rendre accessible le  $N_2$  récemment fixé à l'ensemble de la communauté planctonique. Elle est reconnue désormais comme un processus clé dans les cycles biogéochimiques de l'azote mais aussi du carbone puisqu'elle représente une source nouvelle d'azote pour la couche de surface qui stimule la pompe biologique, mécanisme permettant d'absorber une partie du dioxyde de carbone émis dans l'atmosphère et de l'exporter vers le fond des océans.

Jusqu'à présent, il était communément admis que les cyanobactéries marines étaient considérées comme responsables d'une grande partie de la fixation de  $N_2$  dans les océans (Carpenter and Romans, 1991). Cependant, des études récentes basées sur l'amplification du gène marqueur *nifH* –encodant une des sous unités de la nitrogénase– ont montré qu'il existait aussi des diazotrophes non cyanobactériens (**DNC**) actifs dans la colonne d'eau attachés à des particules (pelotes fécales, agrégats indéfinis) (Farnelid et al., 2019; Geisler et al., 2019). De plus, l'assemblage de génomes provenant d'ADN métagénomique des expéditions *Tara Ocean* (Delmont et al., 2018) a mis en évidence leur présence en abondance dans tous les océans. Ces résultats suggèrent que les DNC pourraient jouer un rôle majeur dans la fixation de  $N_2$  dans les océans, remettant en question l'idée selon laquelle les cyanobactéries en sont les principaux responsables. Leur activité de fixation de  $N_2$  pourrait notamment être accentuée lorsqu'elles sont dans l'environnement proche des micro-algues photosynthétiques, comme ceci a été observé chez les cyanobactéries diazotrophes en symbiose avec les diatomées (Foster et al., 2011). Dans ce micro-environnement, appelé **phycosphère**, des transferts de  $N_2$  des diazotrophes vers les micro-algues sont possibles, permettant de supporter la croissance de ces dernières lorsqu'elles sont dans un milieu dépourvu de NID (Foster et al., 2011).

Le but de ce stage sera de (i) caractériser les conditions permettant l'interaction symbiotique entre des DNC marines et la diatomée *Phaeodactylum tricornutum*; et (ii) quantifier à l'échelle de la cellule unique le niveau d'expression de gènes liées à la diazotrophie.

Dans le cadre de ce stage, deux approches seront menées en parallèle :

- La 1<sup>ère</sup> approche visera à tester différentes conditions (+/- NID, +/-  $O_2$ ) expérimentales permissives pour la diazotrophie. Des co-cultures seront également réalisées avec *P. tricornutum*, afin de mesurer le taux de transfert d'azote depuis les bactéries vers les diatomées. Cette quantification se fera par marquages isotopiques  $^{15}N_2$  et mesures par EA-IRMS.

- La 2<sup>e</sup> approche sera de construire des biorapporteurs, composés chacun du promoteur d'un gène lié à la diazotrophie placé en amont d'un gène rapporteur comme la *gfp*. Après ré-introduction dans la souche diazotrophe, des cultures seront menées, selon différentes conditions expérimentales. L'activité d'expression des gènes étudiés sera quantifiée à l'échelle de la cellule unique par microscopie à épifluorescence, afin de caractériser le niveau d'expression des biorapporteurs et le lien avec les conditions environnementales testées.

Ce stage de 6 mois comprend des approches en microbiologie, génétique bactérienne, biologie moléculaire et synthétique, microscopie quantitative à épifluorescence et EA-IRMS. Suivant la flexibilité du candidat, des courts séjours à l'Institut Universitaire Européen de la Mer (Brest-Plouzané) sont envisagés pour les approches en EA-IRMS.

Personne à contacter :

François Delavat  
Maître de Conférences  
UFIP – UMR6286  
Université de Nantes

- Carpenter, E.J., and Romans, K. (1991) Major role of the cyanobacterium *trichodesmium* in nutrient cycling in the north atlantic ocean. *Science* **254**: 1356-1358.
- Delmont, T.O., Quince, C., Shaiber, A., Esen, O.C., Lee, S.T., Rappe, M.S. et al. (2018) Nitrogen-fixing populations of Planctomycetes and Proteobacteria are abundant in surface ocean metagenomes. *Nature Microbiology* **3**: 804-813.
- Farnelid, H., Turk-Kubo, K., Ploug, H., Ossolinski, J.E., Collins, J.R., van Mooy, B.A.S., and Zehr, J.P. (2019) Diverse diazotrophs are present on sinking particles in the North Pacific Subtropical Gyre. *ISME Journal* **13**: 170-182.
- Foster, R.A., Kuypers, M.M., Vagner, T., Paerl, R.W., Musat, N., and Zehr, J.P. (2011) Nitrogen fixation and transfer in open ocean diatom-cyanobacterial symbioses. *ISME Journal* **5**: 1484-1493.
- Geisler, E., Bogler, A., Rahav, E., and Bar-Zeev, E. (2019) Direct detection of heterotrophic diazotrophs associated with planktonic aggregates. *Scientific Reports* **9**: 9288.