



Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (SU) / Pr. Sébastien DUPERRON (MNHN)

Madame, Monsieur,

Le parcours de Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » est une formation proposée au sein du Master de Sorbonne Université « Biologie Moléculaire et Cellulaire » parcours « Microbiologie » et du Master du MNHN « Evolution Patrimoine Naturel et Sociétés » spécialité « Environnement, Santé ».

Cette formation orientée à la fois recherche et professionnelle vise à répondre aux demandes grandissantes des laboratoires académiques et des entreprises dans des domaines variés comme la recherche fondamentale en écologie microbienne, la valorisation des microorganismes dans l'industrie, les écotecnologies, l'évaluation du risque sanitaire dans l'environnement, le diagnostic environnemental, l'analyse de l'anthropisation des milieux ...

Cette deuxième année de master se déroule en deux parties : un enseignement théorique et pratique de septembre à mi janvier et la réalisation d'un **stage en laboratoire ou dans une entreprise de mi-janvier à mi-juin 2021**. Le stage de Master 2 doit permettre aux étudiants de se familiariser avec une démarche scientifique (faire un bilan des connaissances, identifier les problèmes à résoudre, élaborer des hypothèses, définir un plan d'expérience, mettre en œuvre un protocole, interpréter et discuter des résultats) et de favoriser leur insertion professionnelle.

La durée totale du stage ne doit pas excéder 6 mois. Les étudiants sont gratifiés sur la durée totale de leur stage suivant les règles en vigueur.

L'étudiant aura à réaliser durant la première partie de son enseignement une étude bibliographique en lien avec son projet de stage (thème défini en concertation avec le responsable du stage) ainsi qu'un échéancier des expériences à réaliser pour mener à bien son projet. C'est pour cette raison qu'il est nécessaire que vous nous transmettiez vos propositions de stage le plus tôt possible.

A l'issue du stage, les étudiants auront à rédiger un rapport (d'une trentaine de pages) et à présenter oralement leur travail lors d'une soutenance, confidentielle ou non, prévue fin juin.

Merci par avance pour votre aide à la formation de nos étudiants et pour vos propositions de stages.

Sébastien Duperron & Fabien Joux
Responsables du parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » (SU-MNHN)

Les propositions de stage sont à renvoyer par e-mail aux adresses suivantes :

Fabien Joux : joux@obs-banyuls.fr

Sébastien Duperron : sebastien.duperron@mnhn.fr

1. Laboratoire d'accueil :

Intitulé : UMR 7245 CNRS-MNHN Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes

Equipe : Cyanobactéries, Cyanotoxines et Environnement

Adresse : 12 rue Buffon, CP39

75231 Paris Cedex 05

Responsable d'unité : Pr. Philippe Grellier

Responsable d'équipe : Dr. Benjamin Marie

Responsable de l'encadrement : Dr. Sahima Hamlaoui (Chargée de la collection PMC-ALCP)

Téléphone : 01 71 21 47 11

E-mail : sahima.hamlaoui@mnhn.fr

Co-encadrant : Pr. Sébastien Duperron

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (1 page maximum) :

Titre

Caractérisation morphologique, génétique et chimique de 8 genres de microalgues eucaryotes (Streptophyta, Desmidiées) de la collection de microalgues du MNHN

Description du sujet

La famille des Desmidiées est la plus riche en espèces et la plus complexe sur le plan taxonomique des streptophytes (Gontcharov & Melkonian 2011, Leliaert *et al.* 2012). Au niveau écologique, les Desmidiées sont plus communes et plus diversifiées dans les lacs et les étangs oligotrophes. Très sensibles aux changements de l'environnement, les Desmidiées sont considérées comme des bio-indicateurs de la qualité des eaux (Ngearnpat & Peerapornpisal 2006). Elles sont également très intéressantes pour la recherche appliquée, puisqu'elles excrètent par exemple des quantités importantes de substances polymères extracellulaires qui forment une gaine mucilagineuse (Lovett 2011, Rossi & De Philippis 2016, Xiao & Zheng 2016, Stamenković *et al.* 2019).

La nature polyphylétique des taxa de ce groupe a été démontrée (Gontcharov & Melkonian 2011). Une meilleure compréhension de la classification de ce groupe se heurte toutefois à deux difficultés : (1) Le manque de séquences dans les bases de données (ce taxon est nettement sous-échantillonné) et (2) Le conflit entre la phylogénie moléculaire et la taxonomie traditionnelle qui doit être résolue par une révision complète de la taxonomie en utilisant l'approche polyphasique (Gontcharov & Melkonian 2011, Leliaert *et al.* 2012). Huit genres de Desmidiées (Streptophyta, Charophyta, Zygnematophyceae) sont présents en collection, représentant 30 souches. L'objectif du stage proposé est de préciser l'identification de ces souches, et de les replacer dans la phylogénie des Desmidiées. L'étude combinera l'approche morphologique à une approche de séquençage multi-locus de gènes marqueurs et de construction d'arbres phylogénétiques qui seront utilisés pour clarifier la classification des Desmidiées et délimiter des espèces hypothétiques. Cette approche taxonomique intégrative pourra s'appuyer également sur la méthode ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery) de délimitation des espèces basée sur l'évaluation des distances entre les séquences (Puillandre & Achaz 2012).

Une caractérisation biochimique des pigments photosynthétiques et des métabolites pouvant constituer des critères importants pour l'identification des taxa sera également réalisée. L'ensemble permettra de confirmer (ou non) l'attribution des souches aux genres et espèces, et de mettre en évidence la présence de nouveaux taxons au sein de la collection. Les phylogénies obtenues contribueront à la révision nécessaire de la classification du groupe, et permettront d'évaluer l'intérêt de traits génétiques (marqueurs) et phénotypique (morphologie et ultrastructure cellulaire, compositions pigmentaires et métaboliques) pour l'identification des taxa.

Approches utilisées

1. Caractérisation génétique :

- Sélection de marqueurs génétiques spécifiques aux microalgues eucaryotes et/ou aux genres étudiés (parmi ARNr 18S, ITS1, ITS2, ARNr 28S, ARNr 16S chloroplastique, *rbcl*).
- Extraction d'ADN ; amplification des gènes marqueurs, séquençage ; comparaison aux bases de données et analyse phylogénétique mono- et multi-locus.
- Mise en évidence de nouveaux clades et évaluation de leur statut (e.g. nouvelle espèce)

2. Caractérisation morphologique :

- Ultrastructure des souches et caractères discriminants par microscopie électronique, complétée si nécessaire par la microscopie photonique.

3. Caractérisation chimique :

- Extraction et analyse des pigments photosynthétiques en collaboration avec le Laboratoire d'Océanographie de Villefranche-sur-Mer.
- Extraction et analyse des métabolites produits par ces différentes souches en culture *via* des approches de métabolomique non-ciblée, en collaboration avec le plateau technique de spectrométrie de masse du MNHN

Les cultures, les extractions et les analyses seront réalisées au sein de l'équipe CCE (UMR 7245) et de la collection de microalgues eucaryotes (culture en conditions contrôlées, extractions d'ADN, amplification PCR, accès aux plateformes de microscopie électronique et de spectrométrie de masse du MNHN).

Des pré-cultures des souches de *Actinotaenium* (n = 1), *Closterium* (n = 8), *Cosmarium* (n = 6), *Micrasterias* (n = 6), *Onychonema* (n = 1), *Pleurotaenium* (n = 3), *Staurastrum* (n = 5), *Staurodesmus* (n = 1) seront réalisées en amont du stage afin d'être disponibles dès son démarrage.

Références

- Gontcharov, A. A. and Melkonian M. (2011). A Study of Conflict between Molecular Phylogeny and Taxonomy in the Desmidiaceae (Streptophyta, Viridiplantae): Analyses of 291 *rbcl* Sequences. *Protist*, 162, 253–267.
- Leliaert F., Smith R.D., Moreau H., Herron M.D. , Verbruggen H., Delwiche C. F. and De Clerck O. (2012). Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31, 1–46.
- Lovett R. A. (2011). Algae holds promise for nuclear clean-up. *Nature*, <https://doi.org/10.1038/news.2011.195>.
- Ngearnpat N. and Peerapornpisal Y. (2006). Application of desmid diversity in assessing the water quality of 12 freshwater resources in Thailand. *Journal of Applied Phycology*, 19:667–674.
- Puillandre N, Lambert A., Brouillet S., Achaz G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21, 1864–1877.
- Rossi F. and De Philippis R. (2016). Exocellular polysaccharides in microalgae and cyanobacteria: Chemical features, role and enzymes and genes involved in their biosynthesis. In *The Physiology of Microalgae*. Springer International Publishing, pp. 565-590.
- Stamenković M., Steinwall E., Nilsson A. K. and Wulff A. (2019). Desmids (Zygnematophyceae, Streptophyta) as a promising freshwater microalgal group for the fatty acid production: results of a screening study. *Journal of applied phycology*, 31, 1021–1034.
- Xiao R. and Zheng Y. (2016). Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotechnology Advances* 34, 1225-1244.