



Proposition de stage Master2 2021 UMR1347 Agroécologie – Dijon

**La sélection génomique adaptée aux communautés bactériennes :
Construction de variants compositionnels de communautés microbiennes dégradants le
glyphosate et le 2,4D et détection d'espèces clés**

Encadrant(s)

Mathieu Siol (mathieu.siol@inrae.fr)

Ayme Spor (ayme.spor@inrae.fr)

UMR Agroécologie

17 rue Sully

BP 86510

21065 Dijon Cedex

France

Durée du stage

6 mois

Dates de stage envisagées

01/01/2021-30/06/2021

Positionnement et objectifs (max 500 mots)

Les pesticides constituent toujours une part intégrante de l'agriculture conventionnelle et une part optionnelle de la protection intégrée. Dès leur application sur les cultures, une fraction entre en contact du sol où ils interagissent avec les microorganismes du sol. Dans certains cas, cette interaction conduit à l'altération physiologique et biochimique des microorganismes mettant en péril les fonctions écosystémiques qu'ils remplissent. Au contraire, dans d'autres situations, l'application récurrente de produits phytosanitaires contribue à sélectionner une communauté microbienne dégradante capable de l'utiliser comme une source de nutriment et d'énergie pour leur croissance (*Haney et al., 2000*).

Ces communautés microbiennes dégradantes peuvent d'ailleurs être utilisées dans des stratégies de bioremédiation pour décontaminer les sols pollués. Classiquement, des repiquages sur des milieux sélectifs sont effectués jusqu'à isoler le ou les micro-organismes dégradants. Ce processus présuppose que l'organisme en question soit cultivable dans les conditions de laboratoire. Il est relativement coûteux en terme de temps et de main d'œuvre. Par ailleurs, même si le ou les organismes d'intérêt sont isolés avec succès, plusieurs études ont montré, que la bioaugmentation (*Vogel, 1996*) de souches ou de consortia dégradants *in situ* s'avérait inefficace pour dépolluer les sols en raison de problèmes d'implantation ou de survie des inocula, ou de déclin de leurs activités dégradantes (*Alexander, 1994*).

En bio-remédiation, l'objectif est d'améliorer une capacité de dégradation d'une communauté cible présente dans un sol contaminé. Le parallèle avec la génétique animale ou végétale, où l'on cherche à introgresser des caractères d'intérêt agronomique au sein de fonds génétiques pré-choisis est assez intuitif. La ou les espèces bactériennes dégradantes peuvent être vues comme le ou les gènes marqueurs du phénotype d'intérêt, et la communauté cible serait le fond génétique choisi. On peut donc légitimement se demander si les concepts et outils développés en génétique animale et végétale, et particulièrement la sélection génomique pourrait être transposée et utilisée dans le but d'introgresser des fonctions de dégradations des pesticides dans des communautés cibles avec des objectifs de bio-remédiation.

Objectifs du stage (max 300 mots)

L'objectif de ce stage sera donc de mettre au point un protocole efficace de construction de communautés bactériennes simplifiées multi-dégradantes en s'appuyant sur les concepts et méthodes utilisées en sélection génomique. L'étudiant se focalisera sur les activités de biodégradation de 2 herbicides très utilisés en agriculture, le glyphosate et le 2,4D. Il aura pour tâche principale de construire des variants compositionnels de communautés bactériennes dégradant ces 2 herbicides par le biais de différents stress/perturbations. Ces variants compositionnels seront évalués pour leur capacité à dégrader les 2 herbicides et un modèle prédictif de l'efficacité de dégradation de ces 2 herbicides sur la base de la composition spécifique des 2 communautés sera développé, en adaptant les outils statistiques utilisés en sélection génomique.

Description du travail qui sera mené (max 500 mots)

1) Choix des communautés fonctionnelles

Différents sols seront évalués par radiorespirométrie (mesure de $^{14}\text{CO}_2$ issue de la biodégradation du ^{14}C -pesticide) pour leur aptitude à dégrader le glyphosate et/ou le 2,4D. Les 2 sols présentant les potentiels de dégradation maximaux pour l'un et l'autre de ces composés seront conservés pour la suite de l'expérience. Un troisième sol récepteur, dégradant peu ou ne dégradant pas les 2 herbicides choisis, sera prélevé et stérilisé aux rayons gamma afin de mener les essais de coalescence visant à y intégrer les fonctions de biodégradation sélectionnées dans les deux premiers.

2) simplification par dilution et évaluation du maintien de la fonction

De façon à diminuer la complexité des communautés microbiennes dégradantes, les sols choisis seront mis en suspension et des dilutions successives seront réalisées et serviront d'inoculum pour coloniser le sol cible stérile. Il s'agira de déterminer la dilution la plus forte (donc la composition la plus simple possible) permettant de conserver la fonction de dégradation initiale (ou s'en approchant le plus) pour chacune des communautés dégradantes.

3) création de variants compositionnels, génotypage et phénotypage

Différents stress et/ou perturbations seront appliqués sur les inoculum dilués choisis de façon à construire des variants compositionnels (cf Romdhane *et al.*, soumis). Ces inoculum perturbés seront ensuite réinoculés dans le sol stérile pour 45 jours de recolonisation. Les communautés établies seront génotypées (séquençage du gène *gyrB* pour accéder à une description fine et plus quantitative des communautés bactériennes que par le séquençage de l'ARNr 16S (Barret *et al.*, 2015) et phénotypées par radiorespirométrie pour leurs capacités à dégrader les 2 pesticides.

4) association marqueurs compositionnels et phénotypes d'intérêt

Les méthodes statistiques utilisées pour la prédiction génomique, telles que les méthodes de régression pénalisée (ridge regression, LASSO, ElasticNet...), seront adaptées et transposées aux jeux de données constitués dans le but de déterminer les associations significatives entre abondance relative d'OTUs d'intérêt et variation des capacités de dégradation.

5) Rédaction du rapport de stage

Encadrement technique nécessaire

L'encadrement technique sera réalisé par Aymé Spor et le personnel technique de l'équipe EMFEED, en particulier Nadine Rouard pour la radiorespirométrie et David Bru pour la biologie moléculaire. L'encadrement des analyses statistiques sera réalisé par Mathieu Siol. L'encadrement de la rédaction du rapport de stage sera co-réalisé par Aymé Spor et Mathieu Siol.

Perspectives

Ce stage permettra à l'étudiant(e) concerné(e) d'acquérir les techniques et concepts de base en écologie microbienne et en sélection génomique, et de se former aux méthodes bioinformatiques et statistiques nécessaires pour réaliser l'analyse des données qu'il/elle générera.