



Muséum  
national  
d'Histoire  
naturelle

## Proposition de stage

### Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

#### 1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Evolution Paris-Seine, Equipe Génétique et Génomique des Thaumarchées  
Adresse : Institut de Biologie Paris-Seine, UPMC, 7 Quai Saint-Bernard, 2<sup>e</sup> étage, case courrier 5, 75252 Paris Cedex 05  
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Guennadi Sezonov  
Responsable de l'encadrement : Sylvie Collin, MC UPMC  
Téléphone : 01 44 27 53 06  
Fax :  
E-mail : sylvie.collin@upmc.fr  
Co-encadrant éventuel : Arnaud Huguet, CR1 CNRS

#### Perspectives de poursuite de thèse :

oui  avec une bourse spécifique  ~~oui~~  
 ~~non~~  non

#### 2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

IMPACT DE LA TEMPERATURE SUR LA SYNTHÈSE LIPIDIQUE CHEZ LES ARCHEES NITRIFIANTES DU SOL

Les Archaea ont été découvertes en 1977 par C Woese et constituent le troisième grand domaine du vivant. Initialement divisé en deux phyla, Eury- et Crenarchaeota, le domaine Archaea a été restructuré en trois phyla en 2008, suite à l'analyse du génome du symbiote *Cenarchaeum symbiosum* (Brochier-Armanet et al, 2008). Ce troisième phylum, les Thaumarchaeota (Ta), fait depuis partie du superphylum TACK (Spang et al, 2015).

Il est reconnu aujourd'hui que les Archaea sont des acteurs majeurs des cycles biogéochimiques sur la Terre. Elles sont responsables de deux voies métaboliques spécifiques dans la méthanogénèse et l'oxydation anaérobie sulfate-dépendante du méthane (Offre et al, 2013). Elles jouent également un rôle-clé dans le cycle de l'azote, en étant capables de réaliser l'oxydation aérobie de l'ammoniac en nitrites (Schleper et Nicol, 2010). Les archées impliquées dans cette première étape limitante de la nitrification sont les Ta. A l'heure actuelle, cinq clusters d'archées oxydatrices de l'ammonium (AOA) ont été définis. Le cluster *Nitrosopumilus* (groupe I.1a) est le groupe d'archées dominant dans les océans, où il peut représenter jusqu'à 40% de la population planctonique microbienne (Karner et al, 2001 ; Herndl et al, 2005). Plusieurs membres de ce groupe, initialement considéré comme exclusivement marin, ont été identifiés aujourd'hui dans des lacs d'eau douce, des sources chaudes et dans des sols. Le cluster *Nitrososphaera* (groupe I.1b), quant à lui, peut représenter jusqu'à 5% des ARNr 16S dans les sols (Oschsenreiter et al, 2003 ; Bates et al, 2013). Peu de données ont été publiées sur les autres clusters (Pester et al, 2012). Plus d'une vingtaine de cultures de Ta ont été établies en laboratoire, mais très peu sous formes de souches pures. Identifié il y a peu, le phylum Ta reste très mal connu au regard du grand nombre d'environnements dans lesquels on le retrouve, et du rôle important que les AOA jouent dans la nitrification océanique et continentale.

Les lipides d'archées sont constitués de di- et tétraéthers de glycérol (Schouten et al, 2013). Ils présentent une structure spécifique plus ou moins cyclisée et peuvent être utilisés comme biomarqueurs environnementaux. Les températures de surface océaniques ou lacustres de temps géologiques pouvant remonter jusqu'au Crétacé peuvent être estimées à partir d'un indice (le TEX<sub>86</sub>), basé sur la distribution des tétraéthers des Ta dans les sédiments (Schouten et al, 2002). L'application de cet indice aux sols reste cependant questionnable, car il a été élaboré à partir de données marines. Une surestimation pouvant aller jusqu'à 15°C a ainsi été constatée lorsque la température de l'environnement a été reconstituée à partir des analyses lipidiques de sols, aussi bien au Tibet qu'en Tanzanie (Liu et al, 2013, Coffinet et al, 2014). Une hypothèse pour expliquer ces écarts est que les communautés de Ta des sols sont différentes et moins abondantes que celles en milieu aquatique. Par ailleurs, l'écologie et la physiologie des Ta du sol est très mal connue. L'utilisation des tétraéthers comme marqueurs d'environnement dans les sols requiert donc une meilleure connaissance (i) des Ta terrestres et (ii) des mécanismes régulant la synthèse et la structure des lipides de ces microorganismes.

Le stage de master 2 proposé s'insère dans un projet de recherche dont l'objectif est de suivre l'effet de la température sur les tétraéthers de Ta du sol. Dans un premier temps, nous étudierons l'impact de la température sur une Ta du sol disponible en culture pure, *Nitrososphaera viennensis* (Tourna et al, 2011). Dans un second temps, nous réaliserons les mêmes expériences sur des cultures enrichies en Ta à partir de deux sols contrastés (organo-minéral et compost). Ce travail permettra d'élargir la gamme de températures testées et de comparer la distribution lipidique obtenue sur une culture pure avec celle obtenue sur une communauté de plusieurs espèces encore non décrites, dont la diversité sera déterminée. Enfin, les deux sols étudiés seront incubés en mésocosmes. L'évolution des profils lipidiques archéens sera suivie directement dans le sol, qui sera placé aux mêmes températures que celles utilisées pour les enrichissements.

### **Approches utilisées :**

Microbiologie : enrichissement et isolement de souches de Ta du sol encore non décrites, par cultures en milieu liquide sélectif ; suivi des cultures par PCR et qPCR sur des gènes cibles (*rRNA 16S* archéen et bactérien, *amoA* archéen et bactérien) ; extractions d'ADN ; étude de la richesse en OTU (*Operational Taxonomic Units*) par DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) ; clonage de produits de PCR et analyses de séquences.

Géochimie : extraction et analyse de lipides d'archées à partir de sols et de cultures liquides.

### **Bibliographie :**

- Bates ST, Clemente JC, Flores GE, Walters WA, Wegener Parfrey L, Knight R, Fierer N (2013) Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil. *ISME J* 7, 652-659.
- Brochier-Armanet C, Bousseau B, Gribaldo S, Forterre P (2008) Mesophilic Crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. *Nat Rev Microbiol* 6, 245-252.
- Coffinet S, Huguet A, Williamson D, Fosse C, Derenne S (2014) Potential of GDGTs as a temperature proxy along an altitudinal transect at Mount Rungwe (Tanzania). *Organic Geochemistry* 68, 82-89
- Herndl GJ, Reinthaler T, Teira E, Vanaken H, Veth C, Pernthaler A, Pernthaler J (2005) Contribution of Archaea to total prokaryotic production in the deep Atlantic Ocean. *Appl Environ Microbiol* 71, 2303-2309.
- Karner M, DeLong EF, Karl DM (2001) Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* 409, 507-510.
- Liu W, Wang H, Zhang CL, Liu Z, He Y (2013) Distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids along an altitudinal transect on Mt. Xiangpi, NE Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Organic Geochemistry* 57, 76-83.
- Ochsenreiter T, Selesi D, Bonch-Ozmolovskaya L, Quaiser A, Schleper C (2003) Diversity and abundance of Crenarchaeota in terrestrial habitats studied by 16S RNA surveys and real time PCR. *Environ Microbiol* 5, 787-797.
- Offre P, Spang A, Schleper C (2013) Archaea in biogeochemical cycles. *Annual Reviews in Microbiology* 67, 437-457.

- Pester M, Rattei T, Flechl S, Gröngroft A, Richter A, Overmann J, Reinhold-Hurek B, Loy A, Wagner M (2012) *amoA*-based consensus phylogeny of ammonia-oxidizing archaea and deep sequencing of *amoA* genes from soils of four different geographic regions. *Environ Microbiol* 14, 525-539.
- Schouten S, Hopmans EC, Schefuß E, Sinninghe Damsté JS (2002) Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures? *Earth Planetary Sci Lett* 204, 265–274.
- Schouten S, Hopmans EC, Sinninghe Damsté JS (2013) The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: a review. *Organic Geochemistry* 54, 19-61.
- Schleper C, Nicol GW (2010) Ammonia-oxidising archaea - physiology, ecology and evolution. *Adv Microb Physiol* 57, 1-41.
- Spang A, Saw JH, Jørgensen SL, Zaremba-Niedzwiedzka K, Martijn J, Lind AE, van Eijik R, Schleper C, Guy L, Eterna TJ (2015) Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature* 521, 173-179.
- Tourna M, Stieglmeier M, Spang A, Könneke M, Schintlmeister A, Urich T, Engel M, Schloter M et al (2011) *Nitrososphaera viennensis*, an ammonia oxidizing archaeon from soil. *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 8420–8425.