

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : « Mer, Molécule, Santé », EA 2160

Adresse : Université de Nantes, Faculté des Sciences, 2 rue de la Houssinière, 44322, Nantes

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pr. F. Y. Pouchus

Responsable de l'encadrement : V. Martin-Jézéquel- CR1 CNRS **

Téléphone : 02 51 12 56 66

Fax : 02 51 12 56 68

E-mail : veronique.martin-jezequel@univ-nantes.fr

Co-encadrant : H. Montanié

Intitulé : LIENSs UMR 7266

Adresse : 2 rue Olympe de Gouges, 17000, La Rochelle

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pr. O. de Viron

Responsable de l'encadrement : H. Montanié, MCF HDR, Université de La Rochelle

Téléphone : 05 46 45 82 80

Fax :

E-mail : helene.montanie@univ-lr.fr

** V. Martin-Jézéquel est localisée à MMS mais administrativement rattachée à LIENSs.

Perspectives de poursuite de thèse :

oui

non

avec une bourse spécifique

oui

Xnon

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

Etude des interactions diatomées/virus d'un système benthique de vasière intertidale.

Contexte :

Les diatomées, groupe majeur de microalgues, réalisent 35 à 75 % de la production primaire marine (Nelson et al. 1995) et ont un rôle majeur dans les écosystèmes riches en nutriments, côtiers pélagiques et benthiques intertidaux. Leur mortalité serait en partie due au broutage et aux attaques parasitaires et virales. Les virus jouent en effet un rôle important dans les écosystèmes marins en infectant les microalgues et en contribuant à réguler les blooms et les successions. *In situ*, les systèmes diatomées-virus sont soumis à une forte variabilité environnementale (cycle saisonnier des paramètres abiotiques) et dans les vasières intertidales au cycle d'émersion-immersion des marées. Si les virus de diatomées induisent des lyses totales de leurs hôtes *in vitro*, il semblerait que *in situ*, les diatomées soient capables d'échapper aux infections, grâce à

des mécanismes de défense (résistance et variabilité intra-spécifique de la susceptibilité) (Tomaru *et al.* 2011, 2015). Il est probable par ailleurs que virus et hôtes aient développé des stratégies de coexistence. Cependant, très peu de suivis des dynamiques diatomées/virus ont été réalisés en milieu marin et les caractéristiques des interactions hôte-virus (infectivité vs mécanismes de défense) aux échelles cellulaire et subcellulaire sont encore mal comprises. Une vingtaine de virus de diatomées pélagiques/tychopélagiques (centrées ou pennées) ont été caractérisés (Tomaru *et al.* 2015). A contrario, rien n'a encore été fait sur des diatomées purement benthiques. L'isolement de modèles hôtes-virus pour d'autres groupes d'algues a permis de mettre en évidence, à l'échelle cellulaire, la manière dont algues et virus interfèrent et, probablement co-évoquent. Par ex., chez la Prymnesiophycée *Emiliana huxleyi*, EhV interfère dans les processus de mort cellulaire programmée, notamment via le détournement du métabolisme antioxydant (ROS, induction de metacaspase) et lipidique (sphingolipides) pour permettre un cycle de réplication virale optimal (Short 2012, Vardi *et al.*, 2012, Sheyn *et al.* 2016). Par ailleurs, la production virale dépendrait de la phase du cycle cellulaire de l'hôte au moment de l'infection (Short, 2012).

Une étude approfondie des systèmes diatomées/virus est donc nécessaire pour comprendre les dynamiques *in situ* et les mécanismes biologiques concernés. Le projet se focalisera sur le biofilm benthique de la vasière intertidale charentaise d'Esnandes (Atlantique).

Le sujet du stage vise à :

- 1 : évaluer si les diatomées caractéristiques des systèmes côtiers littoraux benthiques interagissent de façon persistante ou non avec un assemblage de virus spécifiques
- 2 : isoler et caractériser quelques systèmes diatomées-virus benthiques

Ce projet s'intègre dans celui d'un groupe de recherche récemment constitué en virologie des diatomées marines comprenant 2 spécialistes des microalgues (Nantes et Roscoff) et 3 virologues (La Rochelle, Roscoff et Orsay), ainsi qu'un doctorant (Roscoff). L'étudiant (e) sera basé (e) à La Rochelle mais se déplacera à Nantes selon les besoins du stage et sera susceptible d'utiliser la plateforme Merimage de Roscoff.

Programme de travail / approche expérimentale:

Le stage comprendra une partie de travail de terrain et une partie expérimentale en laboratoire :

1- Suivi de la dynamique saisonnière du biofilm in situ et isolement de virus des vasières

Il s'agira pour l'étudiant de déterminer la prévalence des infections virales *in situ* (vasière intertidale d'Esnandes) en suivant le biofilm microphytobenthique (virus, microalgues) et en réalisant en microplaques des tests d'infestation par le viriobenthos de souches de diatomées isolées (Eissler *et al.*, 2009 ; Nagazaki et Bratbak, 2010 ;) puis d'isoler et caractériser les souches virales à partir des tests positifs (caractérisation morphométrique MET et moléculaire simple (nature génome et taille .. Montanié *et al.*, 1993 ; Auguet *et al.*, 2006).

2- Isolement de souches de diatomées benthiques des vasières

Plusieurs souches de diatomées benthiques printanières ont été isolées en 2016 (notamment des genres *Navicula*, *Gyrosigma*, *Cylindrotheca*). Il s'agira de compléter la collection par quelques souches d'hiver isolées sur les mêmes échantillons que les virus.

3- Mise au point de la détection de l'état physiologique des diatomées en réponse aux stress

Il s'agira pour l'étudiant de participer à la validation sur les souches de diatomées benthiques déjà isolées, des protocoles de marquage et mesures en cytométrie pour des mesures de: viabilité (Veldhuis *et al.* 1997 ; Sheyn *et al.* 2016), vitalité (Leblanc & Hutchins 2005 ; Tesson *et al.* 2009), stress oxydatif (Sheyn *et al.* 2016).

Encadrantes : H. Montanié (La Rochelle) spécialistes des virus marins ; V. Martin-Jézéquel (Nantes/La Rochelle) spécialiste des diatomées et L. Beaugeard (La Rochelle) spécialiste de la cytométrie.

Moyens techniques :

Suivi *in situ* : sorties terrain toutes les 3 semaines pour prélèvement de vase et d'eau interstitielle pour les tests d'infestation et isolement de virus et l'isolement des diatomées par pipetage sous microscope et /ou technique de dilution. Prélèvement saisonnier pour caractérisation des successions de microalgues (métabarcoding 18S, V9) et du métavirome ADN benthique.

Suivi de cultures expérimentales monosouche de diatomées benthiques

Appareils et techniques utilisés : microscopes optiques droit et inversé (à épifluorescence) Zeiss, Leica, cytométrie, MET, PFGE et/ou PCR-RAPD, cytomètre FACS Canto, chambres de culture.

Références

- Auguet JC, Montanié H, Lebaron P, 2006. *Microbial Ecology*, 51, 197-208
- Eissler Y, Chen KWF, Wommack KE, Coats DW, 2009. *Journal of Phycology*, 45, 787-797.
- Nelson D.M., Tréguer P., Brzezinski M.A., Leynaert A., Quéguiner B. 1995. *Global and Biogeochemical cycle*, 9, 359-372.
- Tomaru Y, Fujii N, Oda S, Nagasaki K, 2011. *Aquatic Microbiol Ecology*, 72, 171-183.
- Tomaru Y, Toyoda K, Kimura K, 2015. *Perspectives Phycol.*, 2, 69-81.
- Sheyn et al 2016. *The ISME Journal*, 10, 1742-1754.
- Vardi et al. 2012. *PNAS*, 109 (47), 19327-19332.
- Short SM, 2012. *Environmental Microbiology*, 14, 2253-2271.
- Leblanc K. & Hutchins D.A., 2005. *Limnology and Oceanography Methods*, 3, 462-476.
- Montanié H, Bosy JP, Bonami JR, 1993. *Journal of virology*, 74, 1555-1561
- Tesson B., Gaillard C., Martin-Jézéquel V, 2009. *Botanica Marina*, 52, 104-116.
- Veldhuis M.J. W., Cucci T.L., Sieracki M.E., 1997. *Journal of Phycology*. 33, 527-541.