

Titre du stage :

Biodiversité des microbiomes du tractus intestinal des poissons coralliens: variabilité, structuration et évolution.

Mots clés :

Microbiomes, hôtes, Poissons coralliens, Tractus intestinal, Ecologie microbienne, Diversité phylogénétique, Diversité fonctionnelle, Phyllosymbiose

Laboratoire d'accueil :

Marine biodiversity, Exploitation and Conservation (MARBEC), UMR CNRS 9190
Université de Montpellier, CC093, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 05
Directeur de laboratoire : Laurent Dagorn

Modalités d'encadrement

- Thierry Bouvier (DR CNRS), thierry.bouvier@cnrs.fr
- Sébastien Villéger (CR CNRS), Sebastien.VILLEGER@cnrs.fr
- Jean-Christophe Auguet (CR CNRS), jean-christophe.auguet@cnrs.fr
- Yvan Bettarel (CR IRD), yvan.bettarel@ird.fr
- Marc Troussellier (DR CNRS), marc.troussellier@cnrs-dir.fr

Contexte

Les récifs coralliens figurent parmi les zones biologiques les plus productives du globe, et sont des réservoirs extraordinaires de biodiversité qui assurent des ressources pour près de 500 millions de personnes. Ces écosystèmes déclinent dramatiquement depuis 30 ans, sous l'effet conjugué du réchauffement climatique et d'une pression de pêche croissante. Cette érosion de la diversité des macroorganismes menace le bon fonctionnement de l'écosystème dans son ensemble en perturbant les réseaux trophiques et les cycles des nutriments (Bellwood et al., 2004). C'est au niveau de ces services écosystémiques de soutien que les microorganismes jouent un rôle majeurs (Singh, 2015). Bien que les effets directs de l'anthropisation aient été largement documentés sur la diversité et le fonctionnement des communautés microbiennes associées aux matrices abiotiques (i.e., eaux et sédiments) en milieu récifal, il en est tout autrement concernant les microbiomes des macroorganismes et notamment ceux des poissons, acteurs majeurs des habitats récifaux. Ces microbiomes et notamment ceux du tractus intestinal ont été très peu étudiés chez les poissons (Colston and Jackson, 2016) malgré leurs rôles fondamentaux à la fois sur l'écologie et l'évolution de leurs hôtes (Clements et al., 2014).

Description de la problématique de recherche

Les microorganismes, terme regroupant des organismes microscopiques appartenant aux trois branches de l'arbre du vivant (bactérie, archaëa, eucaryote) et les virus, constituent les plus anciennes et abondantes formes de vie sur la planète. Durant leur évolution, une large partie de ces microorganismes a colonisé d'autres formes de vie, co-évoluant avec ces dernières et constituant ce que l'on nomme aujourd'hui le microbiome. Le microbiome intestinal est sans conteste celui qui a reçu le plus d'attention et nous savons aujourd'hui que ce dernier joue le rôle d'un « organe » à part entière pour l'hôte, participant entre autres à la digestion (Flint et al. 2012) mais également à son développement, à la réponse immunitaire et à la protection vis à vis des pathogènes (Nicholson et al. 2012, Belkaid and Hand 2014). Le développement des techniques de séquençage massif (NGS) et l'émergence de consortia internationaux tel "The Human Microbiome Project" ont permis d'obtenir un inventaire exhaustif de la composition des microbiomes intestinaux et de leur variabilité interspécifique et inter/intra-individuelle particulièrement chez les mammifères terrestres (Groussin et al. 20017, Findley et al., 2013 ; Grice & Segre, 2011). En revanche, chez les vertébrés marins et notamment chez les poissons qui représentent la moitié des espèces de vertébrés connus, les investigations sont naissantes. L'influence de la phylogénie de l'hôte sur leur microbiome intestinal reste à préciser mais ces travaux ont toutefois permis de mettre en évidence des patrons de phyllosymbiose (i.e., co-évolution entre l'hôte et son microbiome) et une influence significative du régime alimentaire (Ley et al. 2009; Sanders et al. 2013; Clements et al. 2014; Mikaelyan et al. 2015). Cependant, ces recherches sont pour leur grande majorité basées sur des approches culturelles ne permettant qu'une description limitée de la biodiversité (Colston et al. 2016). De plus, elles ne sont intéressées qu'à un seul des trois domaines du vivant constituant les microorganismes (i.e., les bactéries) laissant complètement de côté les archées et eucaryotes unicellulaires qui peuvent avoir un rôle fondamental au sein de la microflore intestinale (Gaci 2014, Rayman 2017, Kumar 2015, Tapio 2017). Aujourd'hui, il apparaît donc nécessaire d'approcher l'inventaire de la biodiversité de la microflore intestinales des vertébrés aquatiques de manière plus holistique en augmentant l'éventail des branches du vivant étudiées, tant au niveau du microbiome qu'au niveau de leurs hôtes, afin de faire émerger des patrons structuraux et des interactions microbiennes en relation avec les paramètres de l'hôte (e.g. régime

alimentaire, phylogénie...) et les paramètres environnementaux.

Objectif

L'objectif général du stage est de fournir un inventaire de référence de la biodiversité microbienne associée au tractus intestinal des poissons récifaux et d'identifier ses déterminants.

Plus précisément, ce projet vise à répondre à 2 questions :

- Quelle est la biodiversité en terme de lignées de microorganismes, fonctions associées et interactions, des microbiomes associés au tractus intestinal des poissons coralliens?
- les microbiomes intestinaux sont ils différents entre espèces et ces différences sont elles mieux expliquées par la phylogénie des poissons ou leurs traits écologiques ?

Déroulement du stage

Pour répondre aux questions soulevées par ce stage, le tractus intestinal provenant d'une quarantaine d'espèces de poissons coralliens a été prélevé sur les récifs frangeant et barrière du lagon de Mayotte. La diversité phylogénétique des communautés microbiennes est en cours d'analyses par l'approche barcoding du gène 16S rDNA en utilisant la technologie de séquençage Illumina. A son arrivé, le candidat disposera déjà des séquences et sera en charge des analyses bioinformatiques et biostatistiques permettant de répondre aux objectifs de ce stage. Dans un premier temps, le candidat réalisera un inventaire exhaustif de la diversité des communautés microbiennes des poissons coralliens, en terme d'espèces, de lignées phylogénétiques et de fonctions présentes à l'intérieur de leur tractus intestinal. Outre les typiques facettes alpha et bêta de la diversité, il appliquera également une analyse de réseau sur l'information génétique afin d'explorer les interactions entre microorganismes et identifier l'existence de consortia microbiens caractéristiques de certains clades ou régimes alimentaires (Barberan et al., 2012; Jeanbille et al. 2016). Enfin, il évaluera l'importance de l'histoire évolutive des hôtes et de leur régime alimentaire dans la structuration des communautés microbiennes.

Résultats attendus

Ce stage vise à dresser le premier inventaire de la biodiversité de la microflore intestinale des principales familles de poissons récifaux incluant toutes les domaines de la vie (bactéries, archaea, micro-eucaryotes), et leurs fonctions. Il s'agira également de documenter pour la première fois les interactions potentielles entre les différents microorganismes constituant ces microbiomes. Enfin, les données obtenues permettront d'identifier des microorganismes et des fonctions microbiennes présentant des patrons de co-spéciation chez les espèces de poissons. Nous prévoyons que les mécanismes de co-évolution (i.e., effet de l'histoire évolutive de l'hôte) et de convergence évolutive (i.e., effet du régime alimentaire) affectent de manière significative la répartition des différentes lignées microbiennes intestinales au sein des poissons récifaux.

Méthodes

Le stage débutera par la vérification et l'assemblage des séquences d'ADN, à l'aide d'outils bioinformatiques tels que Mothur (Schloss et al., 2009). Les analyses statistiques et le calcul des indices de biodiversité seront ensuite effectués à l'aide du logiciel libre R (<http://www.rproject.org/>) et des scripts développés par les membres de l'équipe de l'UMR MARBEC. La diversité fonctionnelle de tous les échantillons sera elle estimée in-silico et à partir des résultats de barcoding à l'aide de la méthode PICRUST (Langille et al., 2013). L'estimation de l'importance de l'histoire évolutive des hôtes et de leur diète dans la structuration des communautés microbiennes et l'identification de microorganismes présentant des patrons de co-spéciation seront réalisées en suivant le framework de Groussin et al. (2017) grâce à une phylogénie des poissons et une base de traits déjà disponibles (Leprieur et al 2016 Nat Comm, Mouillot et al. 2014 PNAS). Ces étapes nécessitent d'importantes capacités de calcul; nous utiliserons donc le centre de calcul situé à Montpellier, France (plate-forme Montpellier Bioinformatique Biodiversité (MBB) du Labex CEMEB).

Références bibliographiques des encadrants en relation avec le sujet

- Mouchet, M. A., Bouvier, C., Bouvier, T., Troussellier, M., Escalas, A., and Mouillot, D. (2012). Genetic difference but functional similarity among fish gut bacterial communities through molecular and biochemical fingerprints. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79, 568–580. doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01241.x.
- Escalas, A., Bouvier, T., Mouchet, M. A., Leprieur, F., Bouvier, C., Troussellier, M., et al. (2013). A unifying quantitative framework for exploring the multiple facets of microbial biodiversity across diverse scales. *Environ. Microbiol.* 15, 2642–2657. doi:10.1111/1462-2920.12156.
- Escalas, A., Troussellier, M., Tong, Y., Bouvier, T., Bouvier, C., Mouchet, M. A., et al. (2017). Functional diversity and redundancy across fish gut, sediment, and water bacterial communities. *Environ. Microbiol.*, DOI 10.1111/1462-2920.13822. doi:10.1111/1462-2920.13822.
- Jeanbille, M., Gury, J., Duran, R., Tronczynski, J., Agogué, H., Saïd, O. Ben, et al. (2016).

Response of core microbial consortia to chronic hydrocarbon contaminations in coastal sediment habitats. *Front. Microbiol.* 7, 1–13. doi:10.3389/fmicb.2016.01637.

Fillol, M., Auguet, J.-C., Casamayor, E. O., and Borrego, C. M. (2016). Insights in the ecology and evolutionary history of the Miscellaneous Crenarchaeotic Group lineage. *ISME J* 10, 665–677. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2015.143>.

Chiarello, M., Villéger, S., Bouvier, C., Bettarel, Y., and Bouvier, T. (2015). High diversity of skin-associated bacterial communities of marine fishes is promoted by their high variability among body parts, individuals and species. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91. doi:10.1093/femsec/fiv061.

Mouillot, D., Villéger, S., Parravicini, V., Kulbicki, M., Arias-González, J. E., Bender, M., et al. (2014). Functional over-redundancy and high functional vulnerability in global fish faunas on tropical reefs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 13757–13762. doi:10.1073/pnas.1317625111.

Autres références bibliographiques relative au sujet

Bellwood, D. R., Hughes, T. P., Folke, C., and Nystrom, M. (2004). Confronting the coral reef crisis. *Nature* 429, 827–833. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature02691>.

Clements, K. D., Esther, R., and Choat, J. H. (2014). Intestinal microbiota in fishes : what 's known and what 's not. *Mol. Ecol.*, 1891–1898.

Colston, T. J., and Jackson, C. R. (2016). Microbiome evolution along divergent branches of the vertebrate tree of life: what is known and unknown. *Mol. Ecol.* 25, 3776–3800. doi:10.1111/mec.13730.

Langille, M. G., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A., et al. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol* 31, 814–821. doi:10.1038/nbt.2676.

Rabosky, D. L., Santini, F., Eastman, J., Smith, S. A., Sidlauskas, B., Chang, J., et al. (2013). Rates of speciation and morphological evolution are correlated across the largest vertebrate radiation. 4, 1958. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms2958>.

Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., et al. (2009). Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl Env. Microbiol* 75, 7537–7541. doi:10.1128/aem.01541-09.

Singh, J. S. (2015). Microbes Play Major Roles in the Ecosystem Services. *Clim. Chang. Environ. Sustain.* 3, 163. doi:10.5958/2320-642X.2015.00018.6.

Profil et compétences recherchées

La (le) candidat(e) devra avoir une bonne connaissance des concepts d'écologie des communautés et d'écologie microbienne et des méthodes de biologie moléculaire. Il est souhaité que le candidat ait une formation dans l'un de ces deux domaines. Une expérience en biostatistiques (programmation et l'écriture de scripts en R) et/ou en bioinformatique sera un avantage significatif.

Nous recherchons un(e) candidat(e) motivé(e) pour continuer en thèse. Un sujet sera proposé au concours de l'école doctorale de GAIA 2018 sur) pour participer aux campagnes d'échantillonnage qui se dérouleront jusqu'en 2020 dans le cadre du projet Megafauna (<https://lejournal.cnrs.fr/articles/un-tour-du-monde-pour-la-megafaunamarine>) et au cours duquel la biodiversité microbienne de la mégafaune des régions tropicales sera suivie.

Les candidatures doivent être envoyées à thierry.bouvier@cnrs.fr et doivent inclure :

- une lettre de motivation
- un CV détaillé
- un relevé des modules suivis en M1 et en M2