



Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Laboratoire MCAM UMR7245CNRS/MNHN
Adresse : 63 Rue Buffon, 75005 Paris
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Philippe Grellier
Responsable de l'encadrement : Anaïs Massé
Téléphone : 01 40 79 31 52
E-mail : anais.masse@mnhn.fr
Co-encadrant éventuel : Isabelle Domart-Coulon

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

Microbiote bactérien impliqué dans la tolérance de la chlorophyte *Ostreobium* aux salinités élevées

Le microbiote joue un rôle important dans la tolérance des microalgues aux stress environnementaux comme l'augmentation de la salinité des eaux de surface, liée au réchauffement et à l'évaporation. L'algue verte filamenteuse du genre *Ostreobium* (Ulvophyceae), qui domine les communautés érodant activement les carbonates des coraux tropicaux constructeurs de récifs, est hébergée dans des espèces coralliennes tolérant des salinités de 30 à 42 PSU. Cependant les mécanismes de tolérance et d'adaptation à la salinité de cette algue sont inconnus.

L'objectif du stage est de (i) caractériser le microbiote bactérien associé à l'algue verte *Ostreobium* à 3 salinités via métabarcoding d'amplicons de l'ADNr 16S et (ii) de localiser les taxons dominants par hybridation *in situ* CARD-FISH.

Deux souches d'*Ostreobium* appartenant à 2 lignées génétiques (gène plastidique *rbcl*) seront utilisées sous leur phénotype libre (poussant en dehors du carbonate)¹. Ces souches mono-algales sont déjà acclimatées à 3 salinités : 33, 35 & 40 PSU. Pour chaque souche et salinité, les communautés bactériennes associées aux filaments et surnageants de culture seront caractérisées par métabarcoding de l'ADNr 16S. Les contrôles internes seront des amplicons des extraits d'ADN réalisés sur le kit d'extraction et les milieux de culture frais. Les contrôles externes seront des amplicons des extraits d'ADN de squelettes coralliens provenant de sites récifaux à salinité contrastée (échantillons environnementaux déjà disponibles : Mayotte 35 PSU & Mer Rouge 40 PSU). Les amplicons seront séquencés par Illumina MiSeq par un prestataire externe (Eurofins genomics). Un travail de bioinformatique sera réalisé pour regrouper les séquences en ASV (Amplicon Sequence Variants) et les affilier ensuite à des groupes bactériens via les bases de données (GreenGenes, SILVA). Les taxons d'intérêts pouvant jouer un rôle dans la tolérance de l'algue *Ostreobium* au stress salin seront identifiés et leurs séquences serviront à développer des sondes oligonucléotidiques ADN pour des expériences d'hybridation *in situ* CARD-FISH afin de les localiser par imagerie en microscopie de fluorescence.

Le/la stagiaire réalisera les extractions ADN sur les souches d'*Ostreobium* aux 3 salinités, les surnageants de culture et les échantillons environnementaux. Il/elle réalisera les amplifications par PCR de la région V5-V7 de l'ADNr 16S bactérien^{2,3} et fera les dosages des ADNs pour envoi au

prestataire de métabarcoding. Il/elle analysera les données afin d'identifier les taxons bactériens dominants et faire synthétiser des sondes oligonucléotidiques ADN spécifiques. Simultanément, il/elle développera une méthode de CARD-FISH *in toto* sur filaments algaux en utilisant des sondes universelles ciblant l'ARNr 16S bactérien avant d'appliquer la méthode avec les sondes spécifiques pour visualiser les taxons dominants dans la structure intacte du thalle d'*Ostreobium*, selon le gradient de salinité.

L'étudiant(e) devra avoir de bonnes connaissances en biologie moléculaire (PCR, approches de métabarcoding et/ou hybridation *in situ* CARD-FISH). Une expérience en extraction d'ADN et en microscopie de fluorescence sera un plus. L'étudiant.e devra par ailleurs être motivé.e pour travailler en équipe, être très rigoureux.se (respect des protocoles, du calendrier, maintien d'un cahier de laboratoire...) et faire preuve d'une certaine autonomie. Enfin, de bonnes capacités rédactionnelles ainsi qu'en traitement statistique (sous R) sont fortement attendues.

¹ Massé, A., Tribollet, A., Meziane, T., Bourguet-Kondracki, M. L., Yéprémian, C., Sève, C., Thiney, N., Longeon, A., Couté, A., & Domart-Coulon, I. (2020). Functional diversity of microboring *Ostreobium* algae isolated from corals. *Environmental Microbiology*, 22(11), 4825-4846.

² Vieira, C., Engelen, A. H., Guentas, L., Aires, T., Houlbreque, F., Gaubert, J., et al. (2016). Species specificity of bacteria associated to the brown seaweeds *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) and their potential for induction of rapid coral bleaching in *Acropora muricata*. *Frontiers Microbiology*. 7, 316.

³ Tourneroché, A., Lami, R., Burgaud, G., Domart-Coulon, I., Li, W., Gachon, C., ... & Prado, S. (2020). The bacterial and fungal microbiota of *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyceae). *Frontiers in Marine Science*. 7, 587566.

Contact :

Pour toute information complémentaire ou pour candidater (CV + lettre de motivation), merci de contacter: anais.masse@mnhn.fr et icoulon@mnhn.fr