

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Différenciation de niche, syntrophie et exclusion compétitive : Mise en évidence et quantification de ces processus dans des environnements de sélection à complexité variable.

Nom, Prénom du Maitre de Stage : Spor Aymé

Qualité : Chargé de Recherche

Téléphone : 0380693094 **E-mail :** ayme.spor@inra.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : Fabrice Martin-Laurent

Qualité : Directeur de Recherche

Téléphone : 0380693406 **E-mail :** fabrice.martin@inra.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : Devers Marion

Qualité : Ingénieur d'études

Téléphone : 0380693598 **E-mail :** marion.devers@inra.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : UMR1647 Agroécologie, pôle BIOme

Adresse : 17 rue Sully, 21065 Dijon Cedex

Nom du candidat éventuellement proposé : Billet Loren

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ? Non

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...) :

Le principe d'exclusion compétitive stipule que deux espèces ou plus exploitant une ressource limitante unique ne peuvent pas coexister à long terme dans un environnement stable et homogène. La coexistence peut être établie si : *i*) la ressource est partitionnée spatialement ou dans le temps, ou disponible sous diverses formes, auquel cas le processus de différenciation de niches devrait se mettre en place ; ou si *ii*) les espèces en compétition établissent des relations de type syntrophique, l'une des espèces sécrétant par exemple des composés permettant la croissance de(s) autre(s).

L'objectif de ce stage sera de : *i*) quantifier l'importance relative des processus d'exclusion compétitive, de différenciation de niches et de mise en place de relations syntrophiques selon la complexité de l'environnement, et d'ainsi *ii*) définir les conditions environnementales favorisant la coexistence d'espèces initialement sélectionnées pour leur capacité à exploiter une même ressource, l'herbicide atrazine.

Cet herbicide interdit en France depuis 2003, mais encore utilisé aux États-Unis, en Afrique et en Chine malgré sa persistance dans l'environnement. Des microorganismes du sol sont cependant capables de le biodégrader en l'utilisant comme source d'azote et de carbone pour leur croissance. Sa voie de dégradation métabolique est d'ailleurs parfaitement connue et comprend deux grandes étapes : 1) l'élimination de l'atome de chlore et des groupements (chaînes latérales éthylamino-, isopropylamino-, sources d'azote et potentiellement de carbone) greffés sur le cycle *s*-triazinique et 2) la dégradation complète de l'acide cyanurique formé en 1) en CO₂ (source d'azote). Il est important de noter ici que les gènes impliqués dans la voie métabolique de l'atrazine sont connus, et pour la plupart d'entre eux plasmidiques. Nous disposons au laboratoire de quatre isolats capables de dégrader tout ou partie de l'atrazine : *Chelatobacter SR38* est capable de dégrader l'atrazine de bout en bout ; *Arthrobacter sp. TES* peut réaliser entièrement la première étape ; *Variovorax 38R* peut réaliser partiellement cette même étape ; *Pseudomonas sp. ADPe* ne peut que dégrader l'acide cyanurique (deuxième étape). L'ensemble de ces souches possède l'avantage d'avoir un double marquage antibiotique permettant de les distinguer facilement sur boîte de pétri avec la combinaison d'antibiotiques adaptée, même quand elles sont co-cultivées dans un même environnement.

L'expérience consistera donc à suivre l'évolution à relativement long terme de communautés relativement peu complexes constituées de ces 4 populations dans différents environnements variant par leurs complexités, de les comparer entre elles de façon à déterminer les conditions environnementales permettant le maintien de diversité spécifique et de les comparer avec les évolutions de ces mêmes populations dans ces mêmes environnements en culture isolée.

Un environnement principal contenant de l'azote sous différentes formes (Atrazine/Acide Cyanurique/NH₄) et une source de carbone (citrate) sera préparé. Cet environnement sera considéré comme l'environnement de plus grande complexité (3 sources d'azote et potentiellement 2 sources de carbone dont l'atrazine elle-même). Dix environnements secondaires dérivés de l'environnement principal contenant chacun une unique source d'azote ou un mélange de deux parmi les trois types de sources d'azote (avec ou sans citrate dans les cas où l'atrazine est présente) seront préparés. Dans chacun de ces onze environnements, les souches seront cultivées de façon isolée ou en communauté (les quatre ensemble) pendant 30 cycles de 3.5 jours et en triplicats*. Nous aboutirons ainsi à la constitution de 165 lignées indépendantes dont 33 lignées « communautés » et 132 lignées « populations ». Nous suivrons à chaque fin de cycle de culture la densité optique atteinte comme proxy d'évolution de la biomasse totale. Tous les 5 repiquages, un sous-échantillon de chacune des lignées sera additionné de glycérol, congelé dans l'azote liquide et conservé à -80°C.

Nous évaluerons sur les lignées « communauté » ancêtrales, intermédiaires et évoluées (L0, L5, L10, L15, L20, L25 et L30) l'abondance de chacune des populations en fin de cycle de culture par étalement sur milieu sélectif. Nous comparerons les dynamiques de croissance en bioscreen des lignées évoluées « populations » et « communautés » de façon à déterminer l'effet de l'évolution en communauté sur les caractéristiques propres des populations. Les événements de transfert de gènes ayant pu avoir lieu entre populations seront recherchés par PCR ciblant les gènes *trz* et *atz* codant les enzymes de dégradation. Nous évaluerons pour chaque communauté et population l'évolution des vitesses de dégradation de l'atrazine par HPLC et des vitesses de minéralisation de l'atrazine par radiorespirométrie. Ces données nous permettront de déterminer les conditions environnementales favorables au maintien de diversité spécifique dans des communautés bactériennes capables de dégrader l'atrazine, ainsi que de décrire les processus mis en jeu et les mécanismes utilisés.

*NB : la mise en place de l'expérience d'évolution sera réalisée avant le début du stage de M2. Quand l'étudiante arrivera au laboratoire elle prendra la main sur l'expérience entre les cycles 15 et 20.