

PROPOSITION D'UN PROJET DE THÈSE A L'ÉCOLE DOCTORALE « Écologie, Géosciences, Agronomie, ALimentation »

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Titre de la thèse :	<i>Etude des interactions micro-algues bactéries fixatrices d'azote atmosphérique</i>
Acronyme :	MABFIX
Champ disciplinaire 1 :	Ecologie
Champ disciplinaire 2 :	Agronomie
Trois mots-clés :	microalgues, bactéries, azote
Unité d'accueil :	UMR6286, Unité en Sciences Biologiques et Biotechnologies, US2B
Nom, prénom du directeur de thèse (HDR indispensable):	Tirichine Leïla
Adresse mail :	tirichine-l@univ-nantes.fr
Nom, prénom du co-directeur (le cas échéant) (HDR indispensable):	
Adresse mail :	
Nom, prénom du co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant) :	
Adresse mail :	
Nom, prénom du co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant) :	
Adresse mail :	
Financement (origine et montant) :	ADEME+ Région Pays de la Loire
Contact(s) (adresse postale) :	
Mode de recrutement	
Le mode de recrutement du doctorant dépend de la nature du financement du projet de thèse. Pour identifier le mode de recrutement, veuillez consulter le site web de l'ED EGAAL - cliquez ici . Le projet de thèse ne sera pas publié si cette information est manquante.	
<input type="checkbox"/> Concours <input type="checkbox"/> Entretien <input checked="" type="checkbox"/> Autre (précisez) : demi bourse	
ADEME et demi bourse Région Pays de la Loire (non encore acquis)	

Toutes les rubriques de ce document doivent être remplies.

Une fois complété, merci d'enregistrer ce document au format pdf avec le nom suivant :

DESCRIPTION SCIENTIFIQUE DU PROJET DE THÈSE

Contexte socio-économique et scientifique : (10 lignes)

L'azote est un élément limitant essentiel à la croissance des organismes vivants. C'est un composant majeur de la chlorophylle, le pigment le plus important nécessaire à la photosynthèse, ainsi que des acides aminés, les principaux éléments constitutifs des protéines et d'autres biomolécules importantes, comme l'ATP et les acides nucléiques. La disponibilité de l'azote (N) limite la production biologique dans de vastes zones de l'océan mondial et est donc étroitement liée à la fixation du dioxyde de carbone atmosphérique et à l'exportation du carbone de la surface de l'océan. Près de 80 % de l'atmosphère terrestre se présente sous la forme de N₂ gazeux et uniquement certaines bactéries sont capables de le fixer. On considère généralement que les cyanobactéries sont responsables de la plupart des fixations de diazote dans les eaux marines. Cependant, cela a récemment fait l'objet d'un débat car les cyanobactéries ne sont pas les seuls diazotrophes dans les océans. Des analyses moléculaires récentes indiquent que les diazotrophes non cyanobactériens (DNC) sont également présents et actifs. En effet, une dominance écrasante de divers amplicons *nifH*, gène lié à la nitrogénase, a été détectée, liée à des non-cyanobactéries, en particulier à des protéobactéries de types gamma et alpha. Il a été suggéré que la communauté diazotrophe distincte des protéobactéries est attribuable aux conditions oligotrophes et que les interactions mutualistes entre la fixation de l'azote par les bactéries et la libération de carbone organique dissout par le phytoplancton pourraient être à la base des écosystèmes oligotrophes. La fixation de l'azote par les DNC peut donc avoir un impact profond sur le bilan azoté mondial, la productivité primaire et par conséquent la séquestration du CO₂. Aucune étude jusqu'à présent n'a été effectuée sur les interactions de bactéries fixatrices d'azote de type proteo avec des microalgues et notre récente découverte de la présence de ce type d'interaction avec une diatomée modèle ouvre de nouvelles perspectives prometteuses pour comprendre les mécanismes moléculaires de cette interaction et les possibilités d'application de ces interactions à la biologie synthétique ou l'on peut imaginer le choix d'inoculum capables de répondre aux besoins d'azote des microalgues pour la production de biomasse ce qui affranchira l'exploitation des microalgues d'apports d'engrais azotés qui sont source de pollution et représentent un coût non négligeable surtout en cette période où il y a une pénurie des énergies fossiles et une dépendance de l'Europe du gaz russe.

Hypothèses et questions scientifiques (8 lignes)

Nous nous intéressons à la spécificité d'hôte pour la fixation d'azote chez la diatomée modèle *Phaeodactylum tricornutum* chez qui nous avons découvert une interaction avec des bactéries de type proteo-bactérie qui fixent l'azote atmosphérique. Nous disposons de plusieurs variants naturels chez cette espèce qui présentent une réponse différente après inoculation avec une bactérie fixatrice d'azote ce qui suggère la présence de composés spécifiques chez l'hôte qui déterminent la spécificité et l'efficacité de la fixation d'azote

Quels sont les gènes et les métabolites chez la diatomée qui sont importants pour la spécificité d'hôte ?

Quels sont les molécules secrétées par les cellules hôtes pour induire et établir l'interaction ?

Quels sont les facteurs épigénétiques qui régulent la spécificité d'hôte ?

Principales étapes de la thèse et démarche (10-12 lignes)

Le projet démarrera par la confirmation d'un crible déjà effectué et son extension à d'autres variants naturels de *P. tricornutum*. Cette étape consiste en un crible global de toutes les accessions de *P. tricornutum* en carence d'azote

Au préalable, il faudra rendre axénique les accessions par l'utilisation d'un cocktail d'antibiotiques et vérification par un milieu riche en peptone mais également par microscopie à transmission après coloration au DAPI qui permet de détecter les bactéries si présentes.

Le crible permettra d'identifier des interactions compatibles et d'autres incompatibles ainsi qu'un éventail de combinaisons intermédiaires.

Le transcriptome, épigénome (méthylation de l'ADN ainsi que l'acétylation et le triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3), métabolome ainsi que le sécrétome de 3 combinaisons (compatible, incompatible et intermédiaire) seront analysés. Les gènes clés déterminés et la caractérisation fonctionnelle de 3 gènes clés sera effectuée en utilisant une approche génétique de CRISPR cas9.

Approches méthodologiques et techniques envisagées (4-6 lignes)

Une fois le crible effectué par la mesure de croissance des cellules, les combinaisons choisies seront confirmées par la réduction de l'acétylène en éthylène qui permettra de quantifier l'efficacité de fixation d'azote

Ensuite, c'est une approche omique globale qui sera entreprise. Du RNA seq, avec l'analyse du métabolome et sécrétome.

Enfin, les gènes identifiées seront caractérisés par CRISPR cas9.

Compétences scientifiques et techniques requises pour le candidat

Des compétences en biologie moléculaire et cellulaire. Des connaissances en bioinformatique sont souhaitées.

ENCADREMENT DE LA THÈSE¹

<p>Nom de l'unité d'accueil : US2B Unité des Sciences Biologiques et biotechnologies de Nantes</p>	<p>Nom de l'équipe d'accueil : Epigénome des microalgues et interactions avec l'environnement Epigénome des microalgues et interactions avec l'environnement</p>
<p>Nom du directeur de l'unité : Philippe Simier</p>	<p>Nom du responsable de l'équipe : Tirichine Leila</p>
<p>Coordonnées du directeur de l'unité : philippe.simier@univ-nantes.fr</p>	<p>Coordonnées du responsable de l'équipe : Tirichine-l@univ-nantes.fr</p>
<p>Directeur de thèse Nom, prénom : Tirichine Leila Fonction : Directeur de recherche CNRS Date d'obtention de l'HDR : 04/12/2014 Employeur : CNRS Taux d'encadrement doctoral dans le présent sujet : 100%</p>	

¹ Dans l'ED EGAAL, si 1 scientifique dans la direction de la thèse = 100% d'encadrement doctoral ; si 2 personnes impliquées dans la direction de la thèse = entre 50% et 70% d'encadrement doctoral pour l'HDR directeur ; si 3 personnes impliquées dans l'encadrement de la thèse : répartition : 40% - 30% - 30% de l'encadrement doctoral.

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions et co-directions) (%) : 100

Nombre de directions/co-directions de thèse en cours : 2 et demi

Co-directeur (le cas échéant)

Nom, prénom :

Fonction :

Date d'obtention de l'HDR :

Employeur :

École doctorale de rattachement :

Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet :

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) :

Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours :

Co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant)

Nom, prénom :

Fonction :

Titulaire de l'HDR : oui non Si oui, date d'obtention de l'HDR :

Employeur :

École doctorale de rattachement :

Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet :

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) :

Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours :

Co-encadrant de thèse 2 (le cas échéant)

Nom, prénom :

Fonction :

Titulaire de l'HDR : oui non Si oui, date d'obtention de l'HDR :

Employeur :

École doctorale de rattachement :

Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet :

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) :

Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours :

Partenaire privé (si financement CIFRE, privé,...)

Nom, prénom :

Fonction :

Entreprise :

Partenaire international (si thèse en co-tutelle)

Nom, prénom :

Fonction :

Employeur :

Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet :

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) :

Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours :

Devenir des anciens doctorants du directeur et co-directeur(s)/co-encadrant(s) de thèse (depuis 5 ans)

Compléter les informations suivantes pour chaque ancien doctorant

Nom, prénom : Zhao, Xue

Date de début et de fin de thèse : Septembre 2016-Décembre 2020

Direction de thèse : Tirichine Leila

Emploi actuel, lieu : Assistant Professor, Chine

Contrat (post-doc, CDD, CDI) : CDI

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

1- **Xue Zhao**, Achal Rastogi, Anne Flore Deton Cabanillas, and Leila Tirichine: H3K27me3 natural variation selectively marks genes predicted to be important for differentiation in unicellular algae. **New Phytol.** 2021 Mar;229(6):3208-3220.

2- **Xue Zhao**, Anne Flore Deton Cabanilla et al., **Frontiers in Plant Science** 2020

3- **Xue Zhao**, **Antoine Hoguin**, Timothée Chaumier, and Leila Tirichine : Epigenetic Control of Diatom Genomes: An Overview from In Silico Characterization to Functional Studies. **Book chapter in The Molecular Life of Diatoms, Springer Nature Switzerland AG** 2021.

4- Ait-Mohamed O, Novák Vanclová AMG, Joli N, Liang Y, **Zhao X**, Genovesio A, Tirichine L, Bowler C, Dorrell RG PhaeoNet: A Holistic RNAseq-Based Portrait of Transcriptional Coordination in the Model Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Front Plant Sci.** 2020 Oct 16;11:590949

Nom, prénom : Hoguin, Antoine

Date de début et de fin de thèse : Septembre 2016-Aout 2019

Direction de thèse : Tirichine Leila

Emploi actuel, lieu : Post doc IBPC Paris

Contrat (post-doc, CDD, CDI) : contrat post doc

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

Hoguin A, Rastogi A, Bowler C, Tirichine L. Genome-wide analysis of allele-specific expression of genes in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Sci Rep.** 2021 Feb 3;11(1):2954

Antoine Huguin, Ouardia Ait Mohamed, Feng Yang, Chris Bowler, Auguste Genovesio, Agnès Groisillier, Fabio Rocha Jimenez Vieira, Leila Tirichine : Evolutionary analysis of DNA methyltransferases in microeukaryotes: Insights from the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *In press. NAR*
Xue Zhao, **Antoine Huguin**, Timothée Chaumier, and Leila Tirichine : Epigenetic Control of Diatom Genomes: An Overview from In Silico Characterization to Functional Studies. **Book chapter in The Molecular Life of Diatoms, Springer Nature Switzerland AG 2021.**

Publications majeures des 5 dernières années du directeur de thèse et co-directeur(s)/co-encadrant(s) sur le sujet de thèse :

FINANCEMENT DE LA THÈSE

Origine(s) du financement de la thèse :Concours

Salaire brut mensuel : 3 657,41 €

État du financement de la thèse : Non acquis

Date du début/durée du financement de la thèse :Septembre 2022, 36 mois

Date : 12/04/2022

Nom, signature du directeur d'unité :

Simier Philippe



Nom, signature du responsable de l'équipe :

Tirichine Leila



Nom, signature du directeur de thèse :

Tirichine Leila

