

Proposition de sujet de stage M1 (S2 2024)

Laboratoire d'Ecologie Microbienne (LEM)



Université Claude Bernard



Titre : Développement d'outils moléculaires (metabarcoding) pour l'étude des actinobactéries du sol, focus sur le genre *Frankia*

Mots clés : développement d'outils moléculaires, metabarcoding, *Frankia*, actinobactéries, sol, symbiose actinorhizienne

Laboratoire d'accueil :

UMR 5557 Laboratoire Ecologie Microbienne (LEM) ; <https://www.ecologiemicrobiennelyon.fr/>
Equipes d'accueil : Symbiose Actinorhizienne (SYM)/ Bacterial Efflux and Environmental Resistance (BEER). Bâtiment G MENDEL, 5^{ème} étage, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 Bd du 11 Novembre 1918, 69100 Villeurbanne

Responsables du stage :

Ashley SHADE : ashley.shade@cnrs.fr

Sandra KIM TIAM : sandra.kim-tiam-fook-chong@univ-lyon1.fr

Hasna BOUBAKRI : hasna.boubakri@univ-lyon1.fr

Les actinobactéries jouent un rôle clef dans la santé du sol et des plantes (Bhatti et al 2017). En effet, ils jouent un rôle essentiel dans les processus biogéochimiques en fixant l'azote atmosphérique ou dans le cycle du carbone en possédant de nombreuses enzymes hydrolytiques en tant que micro-organismes saprophytes. Ils interagissent également avec divers organismes (plantes, insectes, humains, etc...) en tant qu'organismes bénéfiques (*Frankia*, *Bifidobacterium*, *Streptomyces*, *Micromonospora*), commensaux (*Propionibacterium*) ou pathogènes (*Nocardia*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*,...). Parmi les actinobactéries présentes dans le sol, celles du genre *Frankia* sont capables d'établir une symbiose avec les plantes actinorhiziennes (plus de 260 espèces appartenant à huit familles). Les plantes actinorhiziennes représentent un modèle de choix encore insuffisamment exploré dans le cadre de la revégétalisation et ceux dans différents contextes (milieu urbain, reforestation, réhabilitation de sites dégradés...). Grâce à leur capacité « fixatrice d'azote atmosphérique » via la symbiose qu'elles établissent au niveau de leurs racines avec l'actinobactérie *Frankia*, ces plantes sont en effet décrites comme plantes pionnières capables de coloniser des sols épuisés et contaminés, et jouant un rôle écologique important dans les premières étapes de la succession végétale (Hu et al 2023). Majoritairement des arbres ou arbustes, elles contribuent fortement à la fertilité du sol, par un enrichissement en éléments nutritifs du sol via la dégradation des racines mortes et de leur litière.

Malgré l'importance de cette symbiose, les relations entre les populations de *Frankia* symbiotiques (présentes dans les nodules de l'aulne) et celles du sol sont mal comprises alors que le succès même des opérations de revégétalisation nécessite une meilleure compréhension de ces relations puisque l'aulne recrute ses symbiotes parmi le pool de *Frankia* de sa rhizosphère. Ce manque de connaissances est le fait du peu d'outils moléculaires disponibles pour l'étude des *Frankia* (et plus généralement des actinobactéries) dans le sol. Plusieurs contraintes sont dues au fait que *Frankia*, comme d'autres

actinobactéries, ont des gènes de ménage très conservés (>99 %), des génomes riches en GC (>70%), une population dormante, ce qui rend plus difficile l'étude de leur diversité par des approches de métabarcoding.

Ainsi le but du stage est d'identifier des gènes candidats qui seront utilisés dans des approches de métabarcoding pour la détection et la quantification des différentes populations de *Frankia* présentes dans le sol. Ce travail s'appuiera sur une recherche dans les bases de données existantes (>30 *Frankia* génomes, >50 Actinomycetia génomes) afin d'identifier des gènes candidats (gènes retrouvés chez l'ensemble des *Frankia* et suffisamment discriminants pour distinguer les différentes populations). Au regard de leur rôle bénéfique dans la santé du sol et des plantes, le stagiaire développera également des outils similaires pour l'étude plus globale des actinobactéries du sol.

Techniquement et à partir des différents génomes, l'étudiant devra identifier un cœur-génome. Un certain nombre de marqueurs génétiques seront sélectionnés en fonction de différents critères, tels que leur spécificité pour caractériser un ou tous les genres représentés dans la classe des Actinomycetia, la présence de domaines conservés et spécifiques, leur divergence phylogénétique, etc... Ensuite, les amorces seront dessinées selon le pipeline proposé par De Silva et collaborateurs (Da Silva et al 2024). Les génomes de *Frankia* de haute qualité (bien couverts), internes et issus de bases de données, seront alignés sur la base des régions codantes avec BLAST, et les résultats positifs ne seront pris en compte que s'ils sont détectés dans les génomes cibles mais absents des génomes inclus dans la base de données RefSoil (Dunivin et al 2019). Pour les Actinomycetia (classe), nous interrogerons une collection curée de génomes disponibles dans les bases de données NCBI ou GOLD. L'étudiant sera responsable de l'élaboration de pipelines bioinformatiques à partir d'outils existants et de la validation *in silico*.

Profil recherché : Etudiant M1 Bioinformatique. Analyse de données génomiques, connaissances des bases de données génomiques procaryotes, bases théoriques métabarcoding, la connaissance des stratégies pour concevoir des amorces efficaces.

References bibliographiques :

Bhatti AA, Haq S, Bhat RA. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microb Pathog*. 2017 Oct;111:458-467. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.036. Epub 2017 Sep 18. PMID: 28923606.

Bhatti AA, Haq S, Bhat RA (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microb Pathog* **111**: 458-467.

Da Silva CGN, Vidal MS, Dourado FdS, Dias ES, Howe AC, Jesus EdC (2024). Specific primers for the rapid detection and quantitation of Rhizobium elite strains of common beans in the plant and environment. *Applied Soil Ecology* **193**: 105156.

Dunivin TK, Choi J, Howe A, Shade A (2019). RefSoil+: a Reference Database for Genes and Traits of Soil Plasmids. *mSystems* **4**: 10.1128/msystems.00349-00318.

Hu B, Flegmetakis E, Liu Z, Hänsch R, Rennenberg H (2023). Significance of nitrogen-fixing actinorhizal symbioses for restoration of depleted, degraded, and contaminated soil. *Trends in Plant Science* **28**: 752-764.

