



Sujet du stage

Contexte :

Durant leur évolution, les microorganismes ont 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, mais également à son développement, à la réponse immunitaire et à la protection vis-à-vis des pathogènes (Belkaid and Hand, 2014).

Le développement des techniques de séquençage massif (NGS) et l'émergence de consortiums 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., 2017). 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. Cependant, ces recherches sont pour leur grande majorité basées sur des approches culturelles ne permettant qu'une description limitée de la biodiversité (Colston and Jackson, 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. 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.

Objectifs :

L'objectif général du sujet est d'évaluer la biodiversité des communautés microbiennes dans le tractus intestinal des poissons. Plus précisément, le M2 s'attachera à: (i) explorer les aspects phylogénétiques et fonctionnels des différents domaines microbiens composant le microbiome intestinal des poissons et (ii) quantifier l'importance de l'histoire évolutive des organismes hôtes et leurs régimes alimentaires dans la structuration de ces communautés.

- Objectif (i): Quelles lignées de microbes, fonctions associées et interactions peuvent être découvertes dans l'intestin des poissons marins? L'étudiant fournira un inventaire des associations microbiennes dans la microflore intestinale des poissons marins qui comprendra pour la première fois de nouvelles branches de la vie associées aux domaines archaea et micro-eucaryotes.
- Objectif (ii): Les interactions entre les poissons et leurs microbiotes sont-elles persistantes et spécifiques au cours de l'évolution? Il identifiera les taxons et les fonctions microbiennes ayant co-évolué avec les différentes lignées de poissons.

Méthodes, données et techniques utilisées :

Pour atteindre ces objectifs, l'étudiant de M2 bénéficiera de l'échantillonnage exhaustif des microbiotes intestinaux de poissons de corail réalisé dans le cadre du projet MICMAC financé par la Fondation Total (PI: T Bouvier). En novembre 2015, les poissons de récif ont été échantillonnés dans deux sites du lagon de Mayotte (océan Indien). Au total, 44 espèces de poissons coralliens représentant 6 ordres ont été échantillonnées. Trois individus par espèce ont été échantillonnés afin de tenir compte de la variabilité intra-spécifique de l'hôte sur la composition du microbiote. Profitant de la campagne océanographique du Yersin (Programme Monaco Explorations), nous compléterons ce jeu de données par un échantillonnage similaire au niveau de la zone Caraïbes afin d'avoir un premier élément de comparaison entre les deux zones tropicales. Le jeu de données final contiendra donc au moins 70-80 espèces de poissons coralliens et constituera donc l'ensemble le plus diversifié d'échantillons de microbiotes de vertébrés marins. Les facettes taxonomique et phylogénétique de la diversité des communautés microbiennes seront déterminées par barcoding des gènes ADN 16S et 18S en utilisant la technologie de séquençage Illumina. La diversité fonctionnelle sera estimée *in-silico* et à partir des résultats de barcoding à l'aide de la méthode PICRUST. L'importance de l'histoire évolutive des hôtes et de leur régime alimentaire dans la structuration des communautés microbiennes et l'identification des microbes ayant co-évolués se réaliseront selon l'approche utilisée par Groussin et al. (2017). Cette approche innovante basée sur la confrontation directe entre les phylogénies microbiennes et les phylogénies hôtes a permis de démêler efficacement les effets de la phylogénie et de l'alimentation sur la structuration du microbiote.

Belkaid, Y., and Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 157, 121–141. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011.

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.

Groussin, M., Mazel, F., Sanders, J. G., Smillie, C. S., Lavergne, S., Thuiller, W., et al. (2017). Unraveling the processes shaping mammalian gut microbiomes over evolutionary time. *Nat. Commun.* 8, 14319. doi:10.1038/ncomms14319.