

Proposition de sujet de thèse 2024

(A remplir par les équipes d'accueil et à retourner à Isabelle HAMMAD : hammad@cerege.fr
*à renseigner obligatoirement pour la validation du sujet, (1) : A remplir lors de la campagne d'attribution des allocations, à l'issue de la session de juin des Masters

Sujet de doctorat proposé*: Adaptation du phytoplancton en contexte anoxique : approche lipidomique et implications (paléo)environnementales

Encadrant(s), nom, prénom, adresse mail*: Grossi, Vincent, vincent.grossi@mio.osupytheas.fr
Laboratoire*: Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO)

Tableau récapitulatif du sujet

Candidat(e) ⁽¹⁾	
Nom - Prénom :	
Date de naissance :	
Licence (origine, années, mention) :	
Mention et classement au Master 1 année (Xème sur Y)	
Mention et classement au S3 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au S4 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au M2 (année) (Xème sur Y)	
MASTER (nom, université)	
Sujet de doctorat proposé*	
Encadrants (2 max, indiquer si HDR ou pas)*	Vincent Grossi (HDR)
Laboratoire*	MIO
Programme finançant la recherche (indiqué si obtenu ou envisagé) (1)	

Sujet de doctorat proposé*

Intitulé* : **Adaptation du phytoplancton en contexte anoxique : approche lipidomique et implications (paléo)environnementales**

- Descriptif *:

Contexte et état de l'art :

L'eutrophisation des milieux aquatiques côtiers et continentaux liée à l'activité anthropique et au réchauffement climatique actuel entraîne une augmentation progressive de "l'asphyxie" de ces écosystèmes, et la mise en place de conditions environnementales adverses (anoxie totale, très fortes concentrations en espèces réductrices tels que les sulfures, potentiel rédox très bas...) auxquelles beaucoup d'organismes dépendants de l'oxygène ne peuvent pas faire face, amenant certains à s'adapter ou à disparaître au profit de populations plus résistantes ou aux capacités adaptatives accrues. Ce processus peut s'étaler sur de longues périodes de temps et entraîner la "mort" de certains écosystèmes aquatiques, ou des changements radicaux de leur fonctionnement biogéochimique. Comprendre ces phénomènes peut aider à leur prédiction et à la prévention de leurs aspects les plus délétères pour nos sociétés. Décrypter les modalités de leur archivage sédimentaire aiderait également à affiner à plus grandes échelles temporelles l'interprétation des épisodes d'anoxie océanique et de leur rôle dans les mécanismes de sélection et d'extinction biologique (Meyer et Kump, 2008).

Les écosystèmes aquatiques stratifiés où les paramètres physico-chimiques varient fortement avec la profondeur, sont caractérisés par de très forts gradients en oxygène, en sels et en éléments réduits (sulfures, ammonium, etc.), au point de devenir parfois impropres au développement de la vie métazoaire. Leurs communautés de producteurs primaires sont souvent constituées de cyanobactéries et de picoeucaryotes dont les modes de vie et les stratégies de survie dans ces conditions sont encore mal compris (Philips et al., 2021). Ces écosystèmes constituent donc un modèle privilégié pour

caractériser l'influence de l'anoxie sur les modes de survie/adaptation de certains organismes 'aérobies'. Leur étude permet également de mieux appréhender leur fonctionnement biogéochimique ainsi que le type de (bio)signatures géochimiques susceptibles d'y être produites et préservées à plus ou moins long terme dans les sédiments et pouvant constituer de précieux outils pour contraindre les études (paléo)environnementales.

Le lac Dziani Dzaha est un lac de cratère volcanique thalassohalin (eau d'origine marine) situé à Mayotte (Océan Indien). C'est un écosystème fortement stratifié caractérisé par l'existence de gradients rédox prononcés (oxycline, halocline, euxicline) et par des propriétés physico-chimiques et biogéochimiques fortement contrastées entre les divers compartiments (Sarazin et al., 2021). Ces dernières incluent notamment une forte production primaire et une reminéralisation intense de la matière organique (MO) qui limitent la pénétration de la lumière et maintiennent des eaux en permanence anoxiques et aphotiques sous 2 m de profondeur. Ces eaux sont également caractérisées par de fortes teneurs en composés réduits dissous (sulfures, ammonium, méthane) sous la chemocline. L'analyse des communautés microbiennes présentes dans les différentes niches écologiques de la colonne d'eau du lac Dziani a permis de démontrer le rôle majeur joué par les forts gradients physico-chimiques dans la structuration des communautés microbiennes et dans le recyclage de l'intense productivité primaire qui est majoritairement assurée par la cyanobactérie *Arthrospira fusiformis* (représentant 90% de la biomasse et récemment renommée *Limnospira platensis*) et le picoeucaryote *Picocystis salinarum* (Sala et al., 2021). De manière surprenante, malgré la dégradation d'une majeure partie de la biomasse cyanobactérienne le long de la colonne d'eau, des cellules cyanobactériennes semblent encore 'viables' dans les couches profondes du lac malgré les conditions drastiques qui y règnent (Le boulanger et al., 2017), tandis que le nombre de cellules du picoeucaryote *P. salina* reste constant dans tous les compartiments de la colonne d'eau, suggérant que cet organisme n'est pas affecté par les fortes variations physico-chimiques rencontrées dans les différents compartiments.

L'étude sédimentologique et géochimique (composition globale et isotopique de la MO et des phases minérales, Thèse Jovovic 2020 ; Jovovic et al., 2020) de carottes de sédiments couvrant l'histoire du lac Dziani Dzaha a mis en évidence un changement brutal et drastique de fonctionnement de l'écosystème il y a environ 1000 ans, suivi de la mise en place d'un écosystème stable et stratifié qui a perduré jusqu'à notre époque. L'analyse de la structure des communautés microbiennes (stage M2 Lilian Cloarec) et des constituants de la MO (stage M1 Mathias Pineau) dans ces mêmes archives a également été initiée. La comparaison de la composition en phyla microbiens et microeucaryotes (% séquences) dans la colonne d'eau et dans les sédiments de (sub)surface prélevés en 2017 montre une distribution très différente entre les deux compartiments. De façon surprenante, une préservation sélective des séquences ADN d'un seul des deux producteurs primaires dominants (le picoeucaryote) est observée dans les sédiments. Le signal "cyanobactérien" qui domine fortement dans la colonne d'eau n'est plus détectable dès les premiers niveaux sédimentaires, suggérant une dégradation intense de l'ADN cyanobactérien dès l'interface eau-sédiment (résultats non publiés). A contrario, les premières analyses des constituants de la MO dans les sédiments de surface montrent une très forte concentration (estimée à plusieurs mg/g de carbone organique) de pigments caroténoïdes réduits dérivés du β -carotène (Fig. 2) et de pigments xanthophylles associés (stage de M1 Mathias Pineau, résultats non publiés), dont la présence dans le registre fossile est classiquement attribuée aux cyanobactéries en raison de leur ubiquité dans les environnements aquatiques. Si tel était le cas, ces résultats démontreraient de façon originale l'extrême rapidité (< à la dizaine d'années) et la sélectivité des processus de dégradation des différents constituants cellulaires (ici biomarqueurs lipidiques vs ADN) de certains producteurs primaires, et les biais d'interprétation pouvant être engendrés lors de l'analyse d'archives sédimentaires récentes, selon l'outil analytique utilisé.

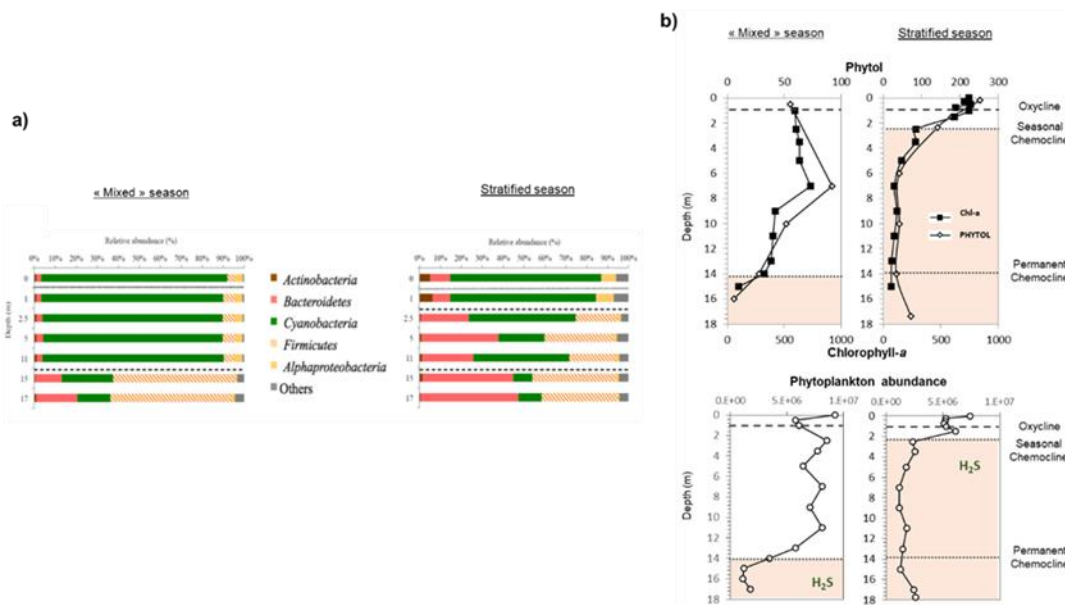


Figure 1. a) Analyse taxonomique des différents phyla bactériens (% de séquences) et b) concentrations en cellules phytoplanctoniques (cellules/mL) et en chlorophylle-a ($\mu\text{g/L}$), dans la colonne d'eau du lac Dziani en fonction de la saison (la stratification étant accrue en période de pluie) (modifiée d'après Sala et al., 2021).

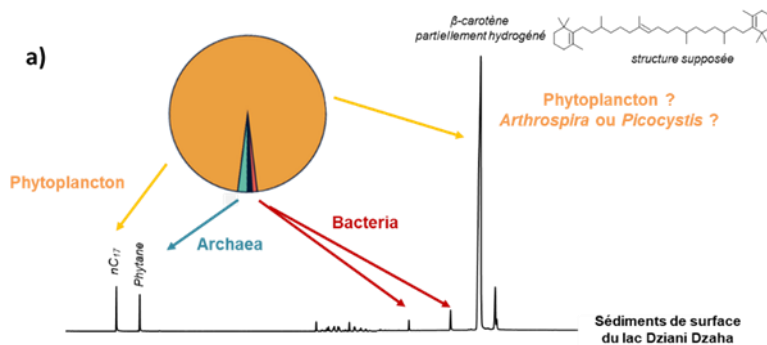


Figure 2. Profils (GC-MS) de lipides apolaires de sédiments superficiels du lac Dziani Dzaha (non publié).

L'origine précise et les modes de formation de ces dérivés de pigments caroténoïdes abondants dans les sédiments du lac Dziani restent pourtant énigmatiques. Ces composés "réduits" n'ayant jamais été identifiés à ce jour chez aucun (micro)organisme, une première interprétation pourrait être qu'ils sont formés par des processus abiotiques (réduction par les sulfures ; Hebbing et al., 2006), à partir des pigments caroténoïdes biosynthétisés par un (ou les deux) producteur(s) primaire(s) dominant(s) au lac Dziani. Une origine autre que ces deux producteurs primaires est peu probable vu les concentrations observées de ces pigments (Fig. 2) en accord avec les biomasses des producteurs primaires. Toutefois, la "simplicité" du signal moléculaire observé ici (Fig. 2) ainsi que des résultats préliminaires (identification structurale par RMN du composé observé en figure 2) ne sont pas en accord avec une réduction abiotique des caroténoïdes qui devrait engendrer une diversité structurale beaucoup plus complexe de dérivés partiellement réduits, les processus abiotiques étant peu spécifiques. Ces pigments caroténoïdes réduits abondants au lac Dziani sont donc très probablement directement biosynthétisés par l'un des deux (voire les deux) principaux producteurs primaires dont le métabolisme cellulaire serait modifié (adaptation du lipidome) sous l'influence de conditions environnementales particulières régnant sous la couche oxygène du lac (anoxie, fortes teneur en sulfures et/ou en ammonium), illustrant un mode inédit d'adaptation et/ou de survie de certains producteurs primaires à des conditions anaérobies.

Approches envisagées :

Ce projet de thèse comporte trois volets complémentaires basés d'une part sur l'analyse d'échantillons naturels et d'autre part sur des cultures en laboratoire (cultures pures et microcosmes) :

1. Le premier et principal volet de la thèse visera à quantifier par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-FID, GC-MS, GC-MS-MS) différents biomarqueurs lipidiques dont l'origine est contrainte (e.g., Fig 2; marqueurs de phytoplancton, de bactéries et d'archées) en parallèle des différents caroténoïdes réduits observés. Les biomarqueurs seront quantifiés 1) dans du matériel particulaire issu des compartiments anoxiques et euxiniques de la colonne d'eau du lac déjà prélevés et 2) dans la partie supérieure (~1,5 m) de carottes de sédiments qui montrent une

transition abrupte entre 2 modes de fonctionnement biogéochimique du lac complètement différents avant et après 1000 ans BP et l'apparition des pigments caroténoïdes réduits (cf. "Etat de l'art"). Tous les échantillons sont déjà disponibles. La comparaison des profils quantitatifs des différents biomarqueurs lipidiques dans les sédiments sur un pas de temps relativement resserré permettra de confirmer l'hypothèse d'une origine biologique des caroténoïdes réduits et d'en suggérer la source (cyanobactérie ou picoeucaryote). En effet, une formation abiotique de ces composés devrait engendrer des profils sédimentaires quantitatifs distincts (i.e., non corrélés) de ceux de biomarqueurs n'ayant subi aucune transformation diagenétique.

En complément, la purification des composés caroténoïdes réduits dérivés de xanthophylles (i.e., produits oxygénés du β -carotène) observés dans les sédiments sera envisagée afin de préciser leurs structures chimiques exactes par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et transformation chimique sélective (OsO_4). L'identification structurale de ces molécules repose à ce jour sur l'interprétation de leur spectre de masse qui ne permet pas pour autant de déterminer leur structure chimique précise qui est fonction de leur mode de production (biotique/abiotique). L'identification de tout le corpus de pigments caroténoïdes réduits (dérivés du β -carotène et de xanthophylles) permettra de les mettre en lien avec les compositions pigmentaires connues des deux organismes phytoplanctoniques (*A. fusiformis* et *P. salinarum*) et de resserrer nos interprétations sur leur potentiel précurseur biologique.

Enfin, la composition en isotopes de l'hydrogène (D/H) des mêmes biomarqueurs sera également mesurée et comparée à celle de composés organiques observés en contexte euxinique (e.g., lac Cadagno) et connus pour être formés par réduction abiotique de marqueurs biologiques d'origine phytoplanctonique (Hebting et al., 2006). Les réactions d'hydrogénation biologique devant engendrer un fractionnement isotopique différent de celui attendu en cas de réactions abiotiques, cela devrait apporter des clés d'interprétation supplémentaires quant au mode de formation biotique/abiotique des dérivés caroténoïdes ciblés.

L'analyse d'échantillons de sédiments issus d'autres écosystèmes sédimentaires (e.g., Lac Mono, USA ; Mer Noire) permettra de déterminer si ces composés sont spécifiques de certains environnements anoxiques.

2. Une seconde approche consistera à incuber en conditions contrôlées de laboratoire les deux producteurs primaires majoritaires du lac Dziani Dzaha. Des souches monoclonales de *A. fusiformis* et *P. salinarum* isolées du lac Dziani et disponibles dans les collections de laboratoires collaborateurs (MNHN Paris, INSA Lyon) seront cultivées individuellement en aérobie et en présence de lumière (similaires à la surface du lac), puis des fractions de chaque biomasse obtenue seront incubées dans des conditions reproduisant les principales conditions extrêmes rencontrées dans les eaux aphotiques anoxiques ou euxiniques de la colonne d'eau. Les cultures de départ en présence d'oxygène serviront de contrôle. L'analyse de la composition lipidique et pigmentaire (chlorophylle, caroténoïdes) des cellules permettra d'explorer les modifications du lipidome de ces deux organismes en réponse aux changements des conditions environnementales. L'analyse de cultures d'enrichissement conservées depuis plusieurs années dans les laboratoires du partenaire INSA Lyon guidera le choix des conditions d'incubation à privilégier/affiner pour identifier les facteurs forçant la production des molécules ciblées.

3. Un 3^e volet consistera à incuber des communautés phytoplanctoniques naturelles issues du Dziani dans des systèmes expérimentaux de laboratoire reproduisant la structure de la colonne d'eau du lac. Ces systèmes expérimentaux, récemment développés par un laboratoire collaborateur (MARBEC), permettent de reproduire avec plus de finesse les diverses niches écologiques et transitions environnementales auxquelles les organismes phytoplanctoniques doivent s'adapter lors de leur sédimentation ou déplacement au sein de la colonne d'eau stratifiée. Un gradient de température et de salinité tels qu'observé in situ sera imposé au système, permettant de séparer une couche de production photosynthétique d'une couche hétérotrophe. Un suivi des abondances, biomasses et activités d' *A. fusiformis* et de *P. salinarum* sera effectué, et des échantillons seront collectés pour en analyser la composition lipidique et pigmentaire (chlorophylle, caroténoïdes). Un stress euxinique/anoxique sera imposé au compartiment inférieur pour évaluer la réponse des signatures biochimiques à ce type de pression environnementale.

Résultats attendus :

Les travaux envisagés doivent notamment permettre de :

- caractériser les mécanismes d'adaptation (modification du lipidome) et des signatures géochimiques spécifiques (moléculaires et isotopiques) de producteurs primaires (cyanobactérie et picoeucaryote) en réponse aux conditions de vie extrêmes (anoxie, obscurité, fortes teneurs en sulfures et ammonium, ...) pouvant s'établir lors de l'eutrophisation des écosystèmes aquatiques ;
- suivre l'effet graduel de changements environnementaux sur les processus microbiens adaptatifs à l'échelle cellulaire et sur la nature des signatures géochimiques susceptibles d'être utilisées comme indicateurs d'évolution des milieux et/ou pour améliorer l'étude biogéochimique et la surveillance des écosystèmes aquatiques ;

- démontrer l'origine biosynthétique (et non diagenétique) de certaines signatures géochimiques observées dans le registre sédimentaire, ce qui permettrait de réévaluer l'interprétation du registre fossile et de remettre en question certains dogmes sur les modes de préservation de la matière organique naturelle.

Références citées : Hebbing Y. et al. (2006) Science 312, 1627-1631 ; Leboulanger et al. (2017) PLoS ONE 12, e0168879 ; Jovovic et al. (2020) Organic Geochemistry 146, 104055 ; Meyer K.M. & Kump L.R. (2008) Annual Review of Earth and Planetary Sciences 37, 507-534; Philips A.A. et al. (2021) Geobiology 19 ; Sala D. et al. (2021) Geobiology 20, 292-309; Sarazin G. et al. (2021) Comptes Rendus Géoscience 352, 559-577.

Détail du Programme finançant la recherche* : Ressources propres déjà acquises du directeur de thèse (correspondant à un reliquat du projet collaboratif avec Total Energies et à la vente d'un équipement analytique) : 30 k€.

Directeur(s) de thèse proposé(s)*

(limiter au plus à deux personnes principales, dont au moins une titulaire de l'HDR)

Directeur HDR proposé*

Nom - Prénom : Grossi - Vincent

Corps : DR2 CNRS

Laboratoire (éventuellement équipe au sein de cette formation) : MIO – équipe CEM

Adresse mail : vincent.grossi@mio.osuptheas.fr

Choix de cinq publications récentes (souligner éventuellement les étudiants dirigés co-signataires) :

Tourte M., Schaeffer P., Grossi V., Oger P.M., 2022. Membrane adaptation in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* relies upon a novel strategy involving glycerol monoalkyl glycerol tetraether lipids. Environmental Microbiology 24, 2029-2046. doi:10.1111/1462-2920.15923

Sala D., Grossi V., Agogué H., Leboulanger C., Jézéquel D., Sarazin G., Antheaume I., Bernard C., Ader M., Hugoni M., 2022. Influence of aphotic haloclines and euxinia on organic biomarkers and microbial communities in a thalassohaline and alkaline volcanic crater lake. Geobiology 20, 292-309. doi: 10.1111/gbi.12477

Vandier F., Tourte M., Doumbe-Kingue C., Plancq J., Schaeffer P., Oger P., Grossi V., 2021. Reappraisal of archaeal C20-C25 diether lipid (extended archaeol) origin and use as a biomarker of hypersalinity. Organic Geochemistry 159, 104276. doi.org/10.1016/j.orggeochem.2021.104276

Jovovic I., Grossi V., Adam P., Simon L., Antheaume I., Gelin F., Ader M., Cartigny P., 2020. Quantitative and specific recovery of natural organic and mineral sulfur for (multi-)isotope analysis. Organic Geochemistry 146, 104055. doi.org/10.1016/j.orggeochem.2020.104055

Thomas C., Grossi V., Antheaume I., Ariztegui D., 2019. Recycling of archaeal biomass as a new strategy for extreme life in the Dead Sea deep sediment. Geology, 47, 479-482. doi.org/10.1130/G45801.1

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années*

Nom : Valentine SCHAAFF

Intitulé : Climatic, environmental changes and human impacts in Central Africa over the last 28 ka inferred from organic biomarkers

Type d'allocation : Allocation spécifique normalien (ENS Lyon)

Date de début de l'allocation de doctorat : 09/2020

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : 11/2023

Programme finançant la recherche : ANR TAPIOCA (PI G. Ménot, ENS Lyon)

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : post-doc

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 50 %

Publications en lien :

Schaaff V., Grossi V., Makou M., Sebag D., Garcin Y., Deschamps P., Sebag D., Ngounou Ngatcha B., Ménot G., Constraints on hopanes and brGDGTs as pH proxies in peat. Geochimica et Cosmochimica Acta, 3e phase de review (corrections mineures).

Schaaff V., Sebag D., Makou M., Grossi V., et al., 2023. Modeling the decomposition signal and correcting bulk organic data from a Peat deposit, a case study at low latitudes (Cameroon). Organic Geochemistry 179, pp.104589. (10.1016/j.orggeochem.2023.104589).

Autre directeur proposé (éventuellement)*

Nom - Prénom :

Corps :

Adresse mail :

Laboratoire (i.e. formation contractualisée de rattachement, éventuellement équipe au sein de cette formation) :

Choix de cinq publications récentes (souligner éventuellement les étudiants dirigés co-signataires) :

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années*

Nom :

Intitulé :

Type d'allocation :

Date de début de l'allocation de doctorat :

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) :

Programme finançant la recherche :

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) :

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction :