**Propositions de sujets de recherche dans le cadre du concours 2020 des allocations de thèse de l’Ecole Doctorale Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement (SVSAE) de Clermont-Ferrand**

[**http://edsvs.univ-bpclermont.fr/?p=35**](http://edsvs.univ-bpclermont.fr/?p=35)

**Rubrique « Financement Doctoral »**

**Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement (LMGE), UMR CNRS 6023**

**Université Clermont Auvergne (UCA)**

<http://www.lmge.univ-bpclermont.fr/>

**Directeur du laboratoire -** Télesphore SIME-NGANDO

telesphore.sime-ngando@univ-bpclermont.fr

**Directeur de thèse :** Christine Archimbaud (MCU-HDR), christine.archimbaud@uca.fr

**Etude du tropisme des entérovirus pour les cellules leucocytaires du sang périphérique et du franchissement de la barrière sang-liquide cérébrospinal.**

Les entérovirus se caractérisent par une grande diversité génétique (>120 types) et représentent la principale étiologie des méningites aiguës chez les enfants et les adultes. Ces virus sont plus rarement associés à des encéphalites et des paralysies flasques. Le diagnostic des méningites à entérovirus repose sur la détection du génome viral dans le liquide cérébrospinal. Les virus pénètrent par la muqueuse du pharynx, puis l’infection est disséminée par la virémie à différents organes dont le système nerveux central (SNC) soit en franchissant la **barrière hémato-encéphalique** (BHE) (via les cellules vasculaires cérébrales) soit la **barrière sang-liquide cérébro-spinal** (via les plexus choroïdes).

Le projet consistera d’une part à étudier le rôle de la virémie (incluant le **tropisme et la réplication des entérovirus pour les cellules leucocytaires** du sang) dans le développement des manifestations neurologiques et d’autre part d’étudier le franchissement de la barrière **sang-liquide cérébro-spinal** par les entérovirus grâce au développement d’un modèle *in vitro* d’épithélium choroïdien.

Volle et al (2015). Differential permissivity of human cerebrovascular endothelial cells to enterovirus infection and specificities of enterovirus 71 in crossing an *in vitro* model of human blood brain barrier. J Gen Virol. 96: 1682-95.

Lafolie et al (2018).Assessment of blood enterovirus PCR testing in paediatric populations with fever without source, sepsis-like disease, or suspected meningitis: a prospective, multicentre, observational cohort study. Lancet Infect Dis. 18:1385-96

**Directeur de thèse :** Joan Artigas (MCU-HDR)

Joan.artigas\_alejo@uca.fr

**Impact et devenir de la contamination plastique dans les écosystèmes de rivière**

Le tourisme de montagne se concentre dans les espaces naturels à fort intérêt, tels que les parcs naturels et les zones Natura 2000. Les cours d’eau de montagne traversant ces espaces s’avèrent très vulnérables aux pollutions d’origine anthropique, et plus précisément, à celles apportées par les déchets plastiques. L’objectif principal de cette thèse sera donc d’évaluer l’impact de ces contaminations plastiques sur le fonctionnement des cours d’eau de montagne, et plus spécifiquement, leur capacité de recyclage des matériaux entrants et leur possible colonisation par les microorganismes. Une deuxième étude s’intéressera à la biodégradation microbienne des bioplastiques dégradables et faiblement dégradables soumis (ou non) à un vieillissement accéléré en conditions contrôlées de laboratoire. L’étude des souches microbiennes ayant une capacité accrue de décomposition de ces matériaux plastiques sera poursuivie afin de caractériser la/les voies métaboliques impliquées. Une troisième étude visera à déterminer l’évolution du potentiel microbien de dégradation des plastiques dans un contexte de changement climatique. Pour ce faire, une expérience en microcosmes testera l’effet du réchauffement climatique et de l’assèchement sur la capacité des biofilms issus des cours d’eau de montagne à dégrader les plastiques.

Carles L, Artigas J (2020) Interaction between glyphosate and dissolved phosphorus on bacterial and eukaryotic communities from river biofilms. Science of the Total Environment, [doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137463](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137463)

**Directeur de thèse :** Isabelle Batisson (MCU-HDR), co-encadrant : Philippe Bouchard (MCU)

Isabelle.Batisson@uca.fr

**Recherche de nouveaux biomarqueurs d’exposition ou d’effet des phytosanitaires par une approche écotoxicogénomique : étude du champ a l’assiette.**

Les outils disponibles pour évaluer l’impact écotoxicologique des pesticides représentent un enjeu important. Une recherche exploratoire menée selon une approche écotoxicogénomique permet le développement de méthodologies analytiques alternatives basées sur les technologies « omiques ». Il ne s'agit donc plus de quantifier des résidus de produits phytosanitaires mais de mesurer le niveau d’exposition d’organismes sentinelles des différents compartiments de l’environnement. A partir de banques de réponses métaboliques obtenues dans des conditions contrôlées cas / témoin de contamination, on recherchera des signatures volatolomiques révélatrices de l’exposition/effet aux insecticides. Le projet fait suite aux résultats obtenus par Hidalgo et al, (2018) et propose de compléter et analyser l’ensemble des données issues d’un continuum biologique représenté par des espèces modèles ou sentinelles (microorganismes, insectes, vertébrés).

Le projet combine une approche analytique non ciblée (déviation du métabolome) et une approche post génomique ciblée sur le gène *tspo* présent dans tous les taxons du vivant.

A terme, il s’agira de déterminer l’intérêt de marqueurs fonctionnels sensibles aux pesticides et plus précisément aux insecticides pyréthrinoïdes pour construire une image panspécifique de leur écotoxicité.

Mots clés : pesticides, (éco)toxicogénomique, biomarqueurs, composés volatiles, expression de gènes, spectrométrie de masse.

**Hidalgo, et al. (2018)**. Volatolomics in bacterial ecotoxicology, a novel method for detecting signatures of pesticide exposure? Frontiers In Microbiology, 9, 3113

**Directeur de thèse :** Alexandre Bec (MCU-HDR), **Co-encadrant :** Apostolos-Manuel Koussoroplis (MCU)

alexandre.bec@uca.fr , a-manuel.koussoroplis@uca.fr

**Effets combinés de la variabilité thermique et des contraintes nutritionnelles sur le fonctionnement et la production des milieux aquatiques**

Prédire l’évolution l’efficience du transfert trophique entre le phytoplancton et le zooplancton dans un contexte de réchauffement climatique est un enjeu majeur mais demeure une question complexe puisque la température affectant directement le taux métabolique des organismes aquatiques, va modifier d’une part, les besoins nutritionnels du zooplancton et d’autre part, les apports nutritionnels via son impact sur la dynamique et la composition taxonomique des communautés phytoplanctoniques. Le sujet de thèse s’attaquera au verrou que constitue la prédiction de l’efficience du transfert trophique entre le phytoplancton et le zooplancton dans un contexte d’augmentation de la variabilité thermique par une combinaison d’approches expérimentales et théoriques. L’objectif sera d’isoler l’effet des différentes composantes de la variabilité thermique (moyenne, variance, autocorrélation) sur le taux métabolique et les traits d’histoire de vie du zooplancton et de quantifier l’effet de leurs combinaisons factorielles avec la qualité nutritionnelle du phytoplancton. Sur le plan expérimental et analytique, l’étudiant.e bénéficiera de méthodologies innovantes telles que le microcalorimétrie pour la mesure du taux métabolique et d’approches de modélisation basées sur la Théorie des Budgets Dynamiques (DEB) actuellement développées dans l’équipe d’accueil.

Ruiz T. et al (**2018**). Ecology Letters 22(11): 1714-1722

Koussoroplis AM et al (**2016**). Ecological Monographs 87 (2):178-197

**Directeur de thèse :** J-F Brugère (MCU-HDR)

J-Francois.Brugere@uca.fr

**Méthanogenèse et système Pyl d’archées intestinales humaines (Methanomassiliicoccales) - étude par analyse multi-omique comparée**

 Les *Methanomassiliicoccales* (MMC) ou 7e ordre méthanogène forment un groupe d’archées se caractérisant par une forte dichotomie évolutive (espèces environnementales / espèces associées à un hôte) et une méthanogenèse originale (hydrogénotrophe, composés méthylés accepteurs d’électrons). Au-delà de l’intérêt en santé humaine (prévention notamment des maladies cardiovasculaires par archaebiotiques et dérivés), le métabolisme de la triméthylamine TMA se caractérise par la nécessité d’une synthèse et d’un encodage du 22e acide aminé pyrrolysine (Pyl). Deux espèces MMC sont isolées à ce jour, dont l’une est un commensal obligatoire des environnements digestifs / associés à un hôte. Les données génomiques déjà acquises indiquent un système Pyl original et une probable évolution du code génétique pour l’espèce associée à l’Homme. Les données transcriptomiques (RNAseq), d’empreintes ribosomales (ribo-seq) et protéomiques sont en cours d’obtention, dans deux conditions de méthanogenèse différentes. La thèse combinera analyses informatiques, expériences et validations biologiques, notamment par mutagenèse dirigée en système bactérien. Elle visera à déterminer dans quelle proportion l’usage de l’acide aminé Pyl est étendue au protéome de l’espèce commensale, ainsi que les mécanismes qui sous-tendent cette évolution du code génétique de traduction d’un codon usuellement non-sens.

- Borrel G *et al* (2017) Genomics and metagenomics of trimethylamine-utilizing Archaea in the human gut microbiome. *ISME J.* 11(9):2059-2074.

- Brugère JF *et al* (2018). Pyrrolysine in archaea: a 22nd amino acid encoded through a genetic code expansion. *Emerg. Top. Life Sci.*, *2*(4), 607-618

**Directeur de thèse :** Pr.Didier Debroas. didier.debroas@uca.fr

**Deciphering the main vehicles of the antibiotic resistance genes in the environments: role of the phages and** membrane vesicles.

At the global scale, antibiotic resistance is a rapidly growing health care problem. At least 700,000 deaths are yearly attributable to resistant microbial infections [worldwide](https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf), and estimates rise above 10 million by 2050 in the absence of a proactive solution. The One Health concepts integrate knowledge of the biological elements required for understanding the evolution of antimicrobial resistance, including all the vectors involved in its emergence and dissemination. Most mobile genetic elements are transferred through cell-cell contact by a conjugation mechanism. However, other mechanisms do not require cell contact between microorganisms, the persistence of the DNA in the environment is therefore critical. Thus, vehicles for the transfer between non-contiguous cells could be phages or, more generally, all vehicles protecting the nucleic acids such as gene transfer agents or membrane vesicles.

We hypothesize that the role of phages and membrane vesicles (MVs) in the dissemination of the antibiotic resistance genes are largely underestimated. The main objectives of this PhD are: 1) To assess the relative importance of phages and MVs compared to the microbiome 2) To evaluate the proportion of the ARGs harbored specifically by MVs and phages; 3) To propose a wastewater monitoring to track dissemination and emergence of the antibiotic resistances by targeting the main vehicles of the ARGs defined in this project.

Debroas, D. & Siguret, C. Viruses as key reservoirs of antibiotic resistance genes in the environment. ISME J 1–12 (2019)

**Directeur de thèse :** Hicham El Alaoui (MCU-HDR), hicham.el\_alaoui@uca.fr

**Validation de nouveaux traitements à base de polyphénols contre la nosémose des abeilles et décryptage du mécanisme d’action**

Les microsporidies sont des parasites eucaryotes unicellulaires apparentés aux champignons et qui possèdent un large spectre d’hôtes, allant des insectes jusqu’à l’homme. L’espèce *Nosema ceranae* est responsable d’une maladie intestinale de l’abeille domestique appelée nosémose. Cet insecte pollinisateur est largement reconnue comme bénéfique dans les domaines économique et écologique. Depuis plusieurs années, un phénomène d’affaiblissement et de mortalité des colonies d’abeilles est déploré par l’impact délétère de facteurs environnementaux et biologiques dont *N. ceranae*. Le seul traitement vétérinaire efficace pour lutter contre *N. ceranae*, le Fumidil® B (fumagilline) n’est plus disponible sur le marché, justifiant la nécessité de trouver des alternatives à la fumagilline.

Des produits naturels d’origine végétale ont montré leur capacité à réduire la mortalité des abeilles infectées par *N. ceranae* et la charge parasitaire par abeille lors d’essais réalisés en laboratoire et en conditions semi-naturelles (brevet déposé). Parmi eux, l’éthylgallate, le plus actif contre *N. ceranae*, a été choisi pour être évalué en conditions naturelles. L’objectif de la thèse sera d’évaluer ce composé sur des colonies naturellement infectées par la parasite. Un partenariat est en place avec le Groupement de Défense Sanitaire Apicole (GDSA63), qui nous permet d’avoir un contact privilégié avec les apiculteurs de la région. Le 2e objectif consistera à décrypter le mécanisme d’action de ce produit. Un accent sera mis sur l’impact de ce traitement sur l’immunité de l’abeille. Ce projet permettra ainsi de proposer une nouvelle stratégie de lutte contre la nosémose des abeilles.

**Directeur de thèse :** Cécile Lepère (MCU)

cecile.lepere@UCA.fr

**Les eucaryotes unicellulaires : la face cachée de l’iceberg microbien**

Les microorganismes sont des acteurs essentiels dans les cycles biogéochimiques. Ces dernières années, les approches d’écologie moléculaire ont permis de faire émerger de nouvelles connaissances sur les eucaryotes unicellulaires aquatiques et ont mis en lumière une diversité insoupçonnée du même ordre de grandeur que celle observée pour les Bactéries et les Archaea. Cependant, ces études essentiellement descriptives ne permettent pas de comprendre le rôle de ces microorganismes dans les écosystèmes qui est alors déduit à partir de leur position phylogénétique, ne donnant ainsi qu’une vision peu précise de leur fonction (phototrophe, hétérotrophe ou parasite).

Cette thèse vise à approfondir notre connaissance sur le rôle fonctionnel des eucaryotes unicellulaires lacustres en couplant des approches -omics innovantes (e.g. analyse de génomes à partir de cellules uniques isolées grâce à la cytométrie en flux).

Les principaux objectifs seront:

1) De développer et mettre en œuvre les approches de métatranscriptomique et de génomique sur « single cell » appliquées aux eucaryotes unicellulaires.

2) À partir des gènes exprimés et des génomes obtenus, inférer le potentiel métabolique des eucaryotes unicellulaires non cultivés (e.g. adaptation à l’anoxie, mixotrophie, parasitisme) afin de comprendre leurs rôles dans les écosystèmes lacustres.

En fonction du profil du candidat, ce sujet pourra s’orienter sur des approches principalement expérimentales ou bioinformatiques.

Jobard et al. 2020. Freshwater Perkinsea: diversity, ecology and genomic information. Journal of plankton research. 42: 3–17.

Lepère et al. 2016. Diversity and dynamics of active microbial eukaryotes in the anoxic zone of a freshwater meromictic lake (Pavin, France). Front Microbiol 7: 130

**Directeur de thèse :** Eric Peyretaillade (MCU-HDR), co-directeur Ivan Wawrzyniak (IE CNRS)

eric.peyretaillade@uca.fr

**Etude du rôle des ARN non codants dans les interactions hôtes-parasites chez les microsporidies**

Les ARN non codants (ARNnc) sont reconnus comme des acteurs majeurs dans la régulation de divers processus cellulaires (Veneziano *et al*). Néanmoins, aucune donnée n’est disponible sur ces molécules et leurs rôles potentiels dans les interactions hôtes/pathogènes chez les microsporidies, des parasites retrouvés dans l’ensemble du règne animal. En effet, seul un « core » minimaliste de 15 ARNnc, jouant un rôle essentiellement dans le splicéosome (snARN), et divers processus de maturation d’ARN (snoRNA), a pu être caractérisé (Belkorchia *et al*). L’objectif de cette thèse sera donc d’assurer la caractérisation de l’ensemble du répertoire des ARN non codants pouvant être produit par ces parasites lors d’un processus d’infection. Pour cela, les données de séquençage massif des ARN totaux obtenues (financement projet émergence I-SITE CAP20-25) seront exploitées à l’aide d’outils de prédictions de structures secondaires et/ou tertiaires. Par la suite, la distribution et le rôle de ces molécules dans le dialogue hôte/parasite seront appréhendés par l’étude de leur expression et de leur régulation au cours du processus d’infestation. La réponse des modulations d’expression des ARN non codants de l’hôte sera également évaluée afin de mettre en évidence les réponses spécifiques de l’hôte et comment s’exerce le contrôle de l’hôte par le parasite.

Veneziano *et al.* Current Deep Sequencing Data Analysis Approaches and Challenges. Hum Mutat. 2016 Dec;37(12):1283-1298.

Belkorchia *et al.* Comparative genomics of microsporidian genomes reveals a minimal non-coding RNA set and new insights for transcription in minimal eukaryotic genomes. DNA Res. 2017 Jun 1;24(3):251-260

Directeurs de thèse : T Sime-Ngando (DR CNRS) telesphore.sime-ngando@uca.fr

 F Enault (MCF) francois.enault@uca.fr

**Classification, diversité et répartition des virus de microbes dans la biosphère**

Les virus sont omniprésents dans la biosphère et infectent l'ensemble des êtres vivants. Au sein des écosystèmes, ils ont un impact sur la diversité des populations microbiennes, l'évolution des génomes de ces populations, et directement ou indirectement sur les cycles biogéochimiques majeurs. L'exploration des communautés virales reste toutefois une tâche complexe et nos connaissances sur la composition, la diversité et la dynamique de ces communautés sont encore très limitées. La métagénomique, appliquée à la fraction virale, permet d'étudier le contenu génétique des virus présents dans un écosystème et a notamment mis en évidence la grande richesse des populations virales environnementales, tant du point de vue des gènes que des génotypes. Toutefois, notre compréhension du monde viral est encore très fragmentaire et la démocratisation récente de la métagénomique virale offre de nouvelles possibilités.

L'objectif de cette thèse sera dans un premier temps de mieux caractériser le contenu en gènes des virus de microbes à partir des nombreux métagénomes publics et de proposer une classification de ceux-ci à partir de leur génome. Ce travail fournira un cadre pour analyser la diversité et la répartition de ces entités dans la biosphère et étudier l’évolution de familles virales d’intérêt. Une attention spéciale sera portée aux écosystèmes lacustres particulièrement étudiés au laboratoire et pour lesquels des données obtenues au sein de notre équipe permettront des analyses plus spécifiques. Dans le cadre de ces travaux, le candidat sera amené à développer des méthodologies bio-informatiques adaptées au traitement de ces données particulières et à les rendre disponibles à l'ensemble de la communauté scientifique.

Roux S, Enault F, Ravet V, Colombet J, Bettarel Y, Auguet JC, Bouvier T, Lucas-Staat S, Vellet A, Prangishvili D, Forterre P, Debroas D, Sime-Ngando T. (2016) Analysis of Metagenomic Data Reveals Common Features of Halophilic Viral Communities Across Continents. Environ Microbiol. 18(3):889-903. Doi: 10.1111/1462-2920.13084. (IF: 4.9)

Roux S, Adriaenssens EM, Dutilh BE, Koonin EV, Kropinski AM, Krupovic M, Kuhn JH, Lavigne R, Brister JR, Varsani A, Amid C, Aziz RK, Bordenstein SR, Bork P, Breitbart M, Cochrane GR, Daly RA, Desnues C, Duhaime MB, Emerson JB, Enault F *et al*. (2018) Minimum Information about an Uncultivated Virus Genome (MIUViG). Nat Biotechnol. Doi: 10.1038/nbt.4306. PMID: 30556814. (IF: 35.7)

**Directeur de thèse :** O Traoré (HDR) otraore@chu-clermontferrand.fr

**Re-sensibilisation aux antibiotiques de bactéries au sein de communautés complexes**

L’augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est liée à leur utilisation croissante et à leur rejet dans l’environnement. Cette omniprésence facilite la survenue de mutants résistants et favorise le transfert horizontal des gènes impliqués entre bactéries. Ainsi les communautés bactériennes complexes (biofilms) baignant dans un environnement pollué par la présence d’antibiotiques (microbiote intestinal de patients traités ou bactéries des eaux usées, notamment hospitalières) constituent des points névralgiques pour l’émergence et la diffusion des résistances aux antibiotiques.

L’objectif de ce projet est de créer des outils capables d’annihiler les gènes de résistance en utilisant une bactérie véhicule, Klebsiella, capable de délivrer par conjugaison un plasmide porteur du système CRISPR-Cas9 ciblant spécifiquement les gènes de résistance aux carbapénèmes. Il s’articule en 2 parties :

- Création des outils CRISPR-Cas9 ciblant les gènes des carbapénémases et détermination de leur efficacité. Un plasmide conjugatif porteur du gène cas9 et d’ADN codant les ARNg spécifiques sera construit et seront mesurés : son taux de conjugaison, son efficacité de re-sensibilisation et sa spécificité dans un modèle simple (conjugaison bipartite in vitro avec une souche sauvage réceptrice).

- L’efficacité de re-sensibilisation sera ensuite mesurée avec des communautés bactériennes complexes (microbiote intestinal murin et biofilms d’effluents hospitaliers en microcosmes).

Biofilms in hospital effluents as a potential crossroads for carbapenemase-encoding strains. Ory J et al. Sci Total Environ. 2019 Mar 20;657:7-15.

Ciprofloxacin residue and antibiotic-resistant biofilm bacteria in hospital effluent. Ory J et al. Environ Pollut. 2016 Jul;214:635-645.